

Aus dem Institut für Allgemeine Pathologie und
Neuropathologie der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Vorstand: Professor Dr. E. Dahme

Angefertigt unter der Leitung von

Priv.-Doz. Dr. D. Stavrou

**Zur Verteilung der
Lactatdehydrogenase-Isoenzyme
bei spontanen und experimentellen
Tumoren des Nervensystems
und seiner Hüllen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Kurt Zänker
aus Passau

München 1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Allgemeine Pathologie und
Neuropathologie der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Vorstand: Professor Dr. E. Dahme

Angefertigt unter der Leitung von

Priv.-Doz. Dr. D. Stavrou

**Zur Verteilung der
Lactatdehydrogenase-Isoenzyme
bei spontanen und experimentellen
Tumoren des Nervensystems
und seiner Hüllen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Kurt Zänker
aus Passau

München 1973

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. E. Dahme
Referent:	Priv.-Doz. Dr. D. Stavrou
Korreferent:	Prof. Dr. K. Tempel

Tag der Promotion: 27. Juli 1973



DEN LIEBEN ELTERN

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
A. EINLEITUNG	
Über die Lactatdehydrogenase-Isoenzyme (LDH-IE)	1
Gegenwärtiger Stand der LDH-IE Darstellung in	
der Tumorforschung	5
B. PROBLEMSTELLUNG	8
C. BISHERIGE LITERATURANGABEN	9
1.0. Eigene Untersuchungen	
1.1. Material und Methodik	10
1.2. Morphologie spontaner und experi-	
menteller Tumoren des Nervensystems (NS)	
und seiner Hüllen	16
1.3. LDH-IE Verteilung im normalen Hirn	17
1.4. LDH-IE Verteilung spontaner Tumoren	
des NS und seiner Hüllen beim Menschen	19
1.5. Spontane Tumoren des NS und seiner Hül-	
len beim Hund und deren LDH-IE Muster	26
1.6. Experimentelle neurogene Tumorender	
Ratte und deren LDH-IE Verteilung	30
1.7. Statistische Auswertung	35
2.0. Diskussion	
2.1. Elektrophoretische LDH-IE Auftrennung	
und mögliche physikalisch-chemische	
Fehlerquellen	39
2.2. Die biologische Varianz des Versuchs-	
materials	40
2.3. LDH-IE und ihre regionale Verteilung	
im Gehirn	41
2.4. Vergleich und Aussagewert der LDH-IE	
von spontanen und experimentellen Tu-	
moren des NS und seiner Hüllen	44
2.5. LDH-IE Veränderungen und ihre mögli-	
che genetische Determination	47
2.6. Beziehungen zwischen LDH-IE und	
dem O ₂ -Verbrauch im blastomatösen	
Gewebe	48
3.0. Zusammenfassung	52
3.1. Summary	54
4.0. Literaturverzeichnis	55

A. EINLEITUNG

Über die Lactatdehydrogenase-Isoenzyme (LDH-IE)

1957 konnten WIELAND und PFLEIDERER zeigen, daß sich die Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27, NAD-Oxydoreductase) aus Rohextrakten verschiedener Rattenorgane im elektrischen Feld in fünf scharf abgegrenzte Banden auftrennen läßt. Entsprechend ihrer elektrophoretischen Wanderung wurden die einzelnen LDH-IE Fraktionen numeriert. Entgegen einer in der anglosächsischen Literatur heute noch zu findenden Nomenklatur setzte das Standing Committee of Enzymes of the International Union of Biochemistry per definitionem fest, daß als IE 1 (LDH_1) die Fraktion bezeichnet wird, die die größte anodennahe Wanderung aufweist. Die vorliegende Arbeit folgt dieser Nomenklatur.

Organspezifität der LDH-IE

Das Spektrum der untersuchten Gewebe von Vertebraten reicht von denen mit hohem O_2 -Bedarf (Herz, Gehirn, Niere) bis zu jenen mit vorwiegend anaerober Stoffwechsellaage (Leber, Skelettmuskel). Dabei stellte sich allgemein heraus, daß im Herzmuskel, dem Gehirn und in der Niere überwiegend LDH_1 und LDH_2 auftreten. LDH_4 und LDH_5 beschränken sich, mit geringen Ausnahmen, auf Leber und Skelettmuskel. In Milz und Pancreas, Thyreoidea, Nebenniere und Lymphknoten erscheint die LDH_3 als die stärkste Fraktion.

Die tetramere Struktur der Lactatdehydrogenase

Das empirisch erfaßte, biologisch unterschiedliche Ver-

halten der LDH hinsichtlich der prozentualen Verteilung ihrer fünf Isoenzyme in den untersuchten Geweben führte zu der Frage, ob dies in der Struktur des LDH-Moleküls begründet sei. In der Tat konnten KAPLAN et al. (1962), MARKERT et al. (1963) und DAWSON et al. (1964) unabhängig voneinander nachweisen, daß die Lactatdehydrogenase als ein tetrameres Polypeptid anzusehen ist, welches aus vier Untereinheiten zweier verwandter Moleküle aufgebaut ist. Dem bevorzugten Auftreten im Herzmuskel (heart) einerseits und im Skelettmuskel (muscle) andererseits nannte man diese Untereinheiten H- und M-Monomer.

Aminosäurezusammensetzung der LDH-IE

Der Dualismus der H- und M-Monomeren der LDH-IE ist eine folgerichtige Erklärung für die sog. Organspezifität; sie ist nichts anderes als ein Ausdruck für die relative Verteilung der Isoenzyme in einem Gewebe. FONDY et al. (1964) und WACHSMUTH et al. (1964) führten Aminosäureanalysen bei verschiedenen Species durch. Es zeigte sich dabei, daß in der aus Gehirn, Niere, Herz und Leber des Menschen sowie aus Herz und Skelettmuskel des Schweines gewonnenen LDH ein signifikanter Anstieg des Gehaltes an Arginin, Glycin, Tyrosin und Phenylalanin von LDH₁ nach LDH₅ festzustellen ist, während Asparaginsäure, Glutaminsäure, Alanin, Valin und Methionin quantitativ abnehmen. Somit ergibt die Aminosäureanalyse eine Erklärung für die verschiedenartigen Nettoladungen und damit elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeiten der fünf Isoenzyme der Lactatdehydrogenase.

Immunologisches Verhalten der H- und M-Monomere

Antikörper gegen den H-Typ zeigen keine Kreuzreaktion mit dem M-Monomer. Umgekehrt zeigen Antikörper gegen das M-Monomer keine immunologische Reaktion mit dem H-Typ (DAWSON et al, 1964). Diese Aussage wird durch die Arbeit von FONDY et al. (1964, 1965) dahingehend eingeschränkt, daß bei der Komplementfixation nach WASSERMANN und LEVINE Kreuzreaktionen auftreten können.

O_2 -Spannung des Gewebes und die Syntheserate an H- und M-Monomeren

Wie weiter aus den Untersuchungen von DAWSON et al. und FONDY et al. hervorgeht, scheint die O_2 -Spannung eines Gewebes bzw. einer Zelle ein Regulator für die Synthese der H- und M-Monomeren zu sein. Eine niedrige O_2 -Spannung wird als adäquater Reiz zur vermehrten Bildung von M-Untereinheiten angesehen, was mit dem dominanten Auftreten der LDH_{3-5} in Geweben mit vorwiegend anaerober Stoffwechsellaage gut übereinstimmt. Eine hohe O_2 -Spannung dagegen soll die Synthese an H-Monomeren analog eines aeroben Metabolismus fördern. Die Arbeitsgruppe KAPLAN folgt dieser Auffassung nur insoweit, als sie eine Variation in der O_2 -Spannung nur als Regulativ für die Syntheserate der M-Monomeren gelten lassen will, zumal sich die H-Monomerenbildung gegen eine Änderung der O_2 -Versorgung im Gewebe indifferent verhält.

Genetische Kontrolle der LDH-IE

Nachdem es als gesichert gelten darf, daß die LDH als tetrameres Polypeptid - aufgebaut aus jeweils zwei sub-

units H und M mit unterschiedlicher Quantität (Hybride LDH_{2-4}) - auftritt, müssen für die Synthese mindestens zwei Gene (A und B) im Säugetierorganismus verantwortlich sein. Es zeigt sich hier, daß bei der Lactatdehydrogenase die "Ein-Enzym Ein-Gen Theorie" nicht aufrecht erhalten werden kann. Dem Organismus ist es im Laufe der Evolution offensichtlich gelungen, mit zwei Genen mit einem in sich variablen Enzymsystem in das Stoffwechselgeschehen so einzugreifen, daß eine optimale Verwertung des angebotenen Sauerstoffes stattfinden kann.

Über die sog. LDH_x

ZINKHAM et al. (1964) berichten, daß sie bei der elektrophoretischen Auftrennung von humanem Hodengewebe bzw. Hoden des Schweines neben den bisher bekannten fünf LDH-Fraktionen eine weitere Fraktion gefunden haben. Sie nannten diese Bande, deren elektrophoretische Beweglichkeit im allgemeinen zwischen LDH_3 und LDH_4 lokalisiert ist, LDH_x . In der Folge wurde die LDH_x bei weiteren Species, so etwa bei der Maus, beim Hund, beim Schwein und beim Rind beschrieben (Lit. bei MARKERT, 1970). Die LDH_x soll nur in Spermatozyten I. Ordnung auftreten, wobei sie in diesen Zellen 80 bis 100% der Gesamt-LDH-Aktivität repräsentiert. Folgerichtig muß nun postuliert werden, daß in den Spermatozyten I. Ordnung ein drittes Gen C für die Synthese der LDH_x in Betracht kommen kann. Die Beziehungen dieses Gens zu den Genen A und B zeigen interessante Probleme in der Evolution des Genoms auf und können einen Einblick in den Mechanismus der Diskriminierung verwandter Gene während der Zell- und Gewebsdifferenzierung gewähren.

Physiko-chemische und kinetische Eigenschaften der LDH-IE

Die rasche Entwicklung der LDH-Enzymdiagnostik förderte auch die Untersuchungen über ihre physikalisch-chemischen und kinetischen Eigenschaften. Eine ausreichende Zusammenfassung findet sich darüber bei MARKERT et al. (1961), LATNER (1968) und WILKINSON (1970).

Die Michaelis-Konstante (K_m -Wert), die ein Enzym in seiner Substratspezifität subtil charakterisiert, ist bei den schnell wandernden LDH-Isoenzymen niedriger als bei den langsam wandernden Fraktionen, was gleichbedeutend ist mit einer größeren Substrataffinität der LDH₁ und LDH₂ als der LDH₄ und LDH₅. FONDY et al. konnten eine optimale Substratkonzentration für Lactat bzw. Pyruvat interpolieren; das Ergebnis zeigt, daß sich die M-Monomeren adaptiert haben, in einer Umgebung mit relativ geringem O₂-Angebot zu arbeiten, also dort, wo mit einer schnellen Akkumulation von Pyruvat zu rechnen ist.

Hohe Pyruvatkonzentrationen hemmen die LDH₁ und LDH₂. Als ähnlich wirksamer Inhibitor muß auch Oxalsäure angesehen werden, mit der Erweiterung, daß sich beide Unterheiten, H und M, als gleich sensitiv erweisen. Wie bei Enzymen allgemein spielen für die Aufrechterhaltung der Aktivität der LDH-IE freie Sulfhydrylgruppen eine bedeutende Rolle (MARKERT, 1968).

Als Substrate kommen neben der DL-Milchsäure und dem Pyruvat auch 2-Oxy-butyrat und einige andere α -Hydroxysäuren in Frage.

Gegenwärtiger Stand der LDH-IE Darstellung in der Tumorforschung

Der Stoffwechsel der Tumoren steht seit den klassischen

Untersuchungen von OTTO H. WARBURG (1926) mit im Mittelpunkt des Interesses der Tumorforschung. Seine Entdeckung, daß die Carcinomzelle neben der Sauerstoffatmung noch eine zweite energieliefernde Reaktion, die Spaltung von Traubenzucker zu Milchsäure besitzt, ebnete einen Weg, in den metabolischen Ablauf einer Tumorzelle Einsicht zu nehmen. Nun ist es WARBURGs Verdienst, gezeigt zu haben, daß im Carcinomgewebe die Atmung im Vergleich zur Glycolyse sehr klein ist. Der Glucoseabbau im Carcinomgewebe findet sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen statt, wenn auch bei letzterer die Milchsäurebildung beträchtlich über den Werten liegt, wie man sie bei aerober Stoffwechselsituation zu erwarten hat. Seine Berechnung für das FLEXNER-JOBLING-Rattencarcinom ergab, daß dieses von 13 Molekülen Zucker, die es angreift, eines oxydiert, die übrigen 12 spaltet.

Es ist nicht verwunderlich, daß man in den vergangenen Jahren in der Tumorforschung immer wieder nach Schlüsselsubstanzen gesucht hat, die einen atypischen Metabolismus von Zellen in Hinblick auf eine exzessive Proliferation in etwa zu signalisieren vermögen. Da in neoplastischen Geweben das im EMBDEN-MEYERHOF-pathway gebildete Pyruvat nicht als Acetyl-CoA in einen "metabolic pool" eingeschleust wird, sondern durch die Lactatdehydrogenase und dem Co-Enzym NADH_2 zu Milchsäure reduziert wird, war es nur konsequent, das Verhalten der LDH-IE bei Prä- bzw. Neoplasien zu untersuchen.

PFLEIDERER und WACHSMUTH (1961) stellten bei der LDH-IE Auftrennung von Krebsgeweben fest, daß sich die Verteilung der LDH-Aktivität vor allem in den kathodisch wandernden Fraktionen LDH_4 und LDH_5 widerspiegelt; dabei spielt es keine Rolle, welchen Ursprungs das Carcinomgewebe ist.

YASIN und BERGEL (1965) finden bei LDH-IE-Analysen in normaler bzw. bösartig transformierter Mukosa des Magens beim Menschen einen Unterschied dahingehend, daß im transformierten Gewebe eine Zunahme der Aktivität der LDH₄₋₅ zu beobachten ist. PROCHAZKA et al. (1968) und WOLFF (1969) berichten über ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der LDH-IE Verteilung in gastro-intestinalem, carcinomatös verändertem Gewebe. LANGVAD (1968) kann ebenfalls eine Aktivitätszunahme kathodisch wandernder Fraktionen bei der LDH-IE Darstellung von tumorös entartetem Colongewebe bestätigen. FUJIMOTO et al. (1968) können darlegen, daß die kathodischen LDH-Banden bei einem sekundären Leberzellcarcinom vermehrt auftreten. In einer umfassenden Arbeit über die LDH und ihre Isoenzyme in neoplastischen Geweben des Menschen legen GOLDMANN et al. (1964) statistische Angaben über den Kathodenshift der LDH-IE in bösartigen Neoplasien und gutartigen Tumoren sowie normalen Geweben vor.

Jedoch sind bis heute größtenteils die Schwierigkeiten nicht überwunden, die sich daraus ergeben, daß ohne exakte Kenntnisse des vielfältigen Stoffwechselgeschehens in der normalen Zelle keine Klarheit über den Stoffwechsel der Tumorzelle erwartet werden kann, wenngleich seit WARBURG sicher angenommen werden darf, daß die Atmung der normal wachsenden Zelle ausreicht, die Glycolyse zu unterdrücken bzw. zum Verschwinden zu bringen.

Weiterhin bleibt es problematisch zu beurteilen, welche Stoffwechselmerkmale primären Charakter tragen, d.h. mit der Genese von Tumorzellen ursächlich verknüpft sind

und welche begleitend sind, d.h. als Folge der tumorös entarteten Zelle auftreten.

B. PROBLEMSTELLUNG

Zum einen hat die Erfahrung gelehrt, daß vergleichende onkologische Betrachtungen nur sinnvoll innerhalb der Vertebratenreihe durchgeführt werden können, da in den übrigen Tierstämmen und -klassen von wenigen, nicht immer überzeugenden Einzelbeobachtungen an Insekten und Mollusken abgesehen, bislang kaum echte Neoblastome gefunden wurden (DAHME, 1967). Gerade die Haustierpathologie, die sich stets als vergleichende Wissenschaft verstand, kann hier einer ihrer Aufgaben gerecht werden und vergleichende Betrachtungen über das Vorkommen und das Verhalten von Tumoren innerhalb der Species der Wirbeltierreihe abgeben.

Zum anderen bedient sich die Onkologie in zunehmendem Maße des Tierexperimentes, um biologische Modelle zu erarbeiten, die Analogieschlüsse hinsichtlich der jeweils aufgeworfenen Fragestellung zulassen.

So können vergleichende enzymdiagnostische Untersuchungen an tumorös veränderten Geweben sowohl experimenteller als auch spontaner Neoplasien bei Vertebraten Hinweise auf Differenzierungsstörungen von Zellen geben, woraus nicht zuletzt therapeutische Konsequenzen abzuleiten sind.

Die vorliegende Arbeit soll vergleichende Aspekte über das LDH-IE Muster von Tumoren des Nervensystems (NS) und seiner Hüllen bei spontanen Neoplasien des Menschen, des Hundes und der Katze und bei experimentellen, mittels N-methyl-N-nitrosoharnstoff (MNH) bzw. Phenyl-dimethyl-triazin (PDT) induzierten Gliomen und Neurinomen der Ratte

aufzeigen. Dabei wird versucht, zur Klärung folgender Fragen beizutragen:

1. Wie stellt sich die LDH-IE Verteilung von NS-Tumoren und seiner Hüllen bei verschiedenen Species dar?
2. Lassen sich morphologisch faßbare Dignitätsmerkmale neurogener Tumoren mit ihrem LDH-IE Muster korrelieren?
3. Inwieweit sind die LDH-IE Auftrennungen bei spontanen und experimentellen Tumoren des NS und seiner Hüllen vergleichbar?

C. LITERATUR

Über das Vorkommen und das Verteilungsmuster der LDH-IE bei Tumoren des NS und seiner Hüllen liegen bereits einzelne Angaben vor. Schon 1960 berichten CORRIDORI et al. über LDH-Aktivitäten in Gehirntumorhomogenaten des Menschen. GERHARDT et al. (1963, 1967) untersuchten normales Hirn und Gliome des Menschen; alternativ fertigten sie histologische Schnitte an und teilten so ein bestimmtes LDH-IE Muster einem diagnostizierten Gliomtyp zu. SHERWIN et al. (1968) hatten ähnliche Aufgabenstellungen, als sie die LDH-IE von 66 Gehirntumoren des Menschen auftrennten. HAGLID et al. (1970) erweiterten die vergleichenden Untersuchungen dahingehend, daß sie noch das klinische Bild des Patienten miteinbezogen. TIMPERLEY (1971) und WOHLRAB et al. (1972) untersuchten neben Gliomen auch Meningeome, Ependymome, Medulloblastome und Neurinome des Menschen.

SANO et al. (1965) äußern sich kritisch zu dem diagnostischen Wert von LDH-IE Studien bei intracraniellen Prozessen. BUCKELL et al. (1967) und SOERTENS et al. (1964) beschreiben zwei zusätzlich auftretende LDH-IE bei zwei bösartigen Gliomen des Menschen und BUCKELL et al. sehen darin eine gewisse Parallelität zu der von ZINKHAM et al. als LDH_x beschriebenen Fraktion in menschlichem Hodengewebe bzw. Hoden des Schweines.

Erste Angaben über Aktivität und Isoenzymmuster der Lactatdehydrogenase bei experimentellen Tumoren liegen von STAVROU et al. (1970) vor; sie beziehen sich auf das periphere Nervensystem der Ratte. Bei STAVROU (1971) und STAVROU et al. (1972 a und 1972 b) wird über vergleichende Aspekte der LDH und ihrer Isoenzyme bei spontanen (Mensch) und experimentellen (Ratte, Kaninchen) Gliomen bzw. Neurinomen referiert. STAVROU et al. (1973) konnten an einem Untersuchungsgut von 84 Gliomen des Menschen (Oligodendrogliom, Astrozytom und Glioblastom) statistisch signifikante Unterschiede bei den einzelnen Gliomtypen des Menschen hinsichtlich des H-Monomerengehaltes bzw. des H/M-Quotienten der LDH-IE aufzeigen.

1.0. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1.1. Material und Methodik

Über die Anzahl der untersuchten Fälle bezüglich der Verteilung der LDH-IE spontaner und experimenteller Tumoren des Nervensystems und seiner Hüllen gibt die Tab. 1 Aufschluß.

Tab. 1: Übersicht über die untersuchten NS-Tumoren
und seiner Hüllen

Tumorklassifikation	SPECIES			
	Mensch ⁺	Hund spontan	Katze	Ratte experimentell
I. Neuroektodermal				
1. Oligodendro- gliome	12	4		3
2. Astrozytome	33	1		3
3. Glioblastome Primär hetero- morphe Gliome	48	2		
Pleomorphe Gliome				8
4. Ependymome	5	1		
5. Medullo- blastome ⁺⁺	3			
6. Neurinome	6			39
II. Mesodermal				
1. Meningome	37	6	1	
Total	144	14	1	53

+ Operationsmaterial

++ Die Einordnung der Medulloblastome ist noch um-
stritten.

a.) Spontane Tumoren des Menschen

Bei den spontanen Tumoren des NS und seiner Hüllen handelt es sich um Operationsmaterial, das freundlicherweise von der Neurochirurgischen Abteilung des Klinikums rechts der Isar der TU München (Chefarzt Dr. W. WEIDENBACH) zur Verfügung gestellt wurde.

Das frisch entnommene Material wurde unverzüglich bearbeitet, sodaß zwischen Entnahme und Aufarbeitung etwa eine halbe Stunde verging und es nicht durch mehrmaliges Einfrieren und Auftauen zu einer unvollständigen Rekombination der LDH-subunits kommen konnte. (MARKERT, 1963)

b.) Spontane Tumoren von Hund und Katze

Die spontanen Tumoren von Hund und Katze stellen Sektionsmaterial dar. Bei Verdacht auf einen intracraniellen Prozeß wurde der Schädel eröffnet und der makroskopisch sichtbare Tumor enukleiert.

c.) Experimentelle neurogene Tumoren der Ratte

An adulten konventionellen Sprague-Dawley-Ratten beiderlei Geschlechts der institutseigenen Zucht wurden nach den Angaben von STAVROU (1969) neurotrope Cancergene verabreicht. Die Tiere wurden in Makrolon[®]-Käfigen, Typ 3, einzeln gehalten. Standarddiät (Altromin[®] R-15) und Wasser standen ad libitum zur Verfügung. Der mit Tageslicht belichtete Versuchstierstall hatte eine Temperatur von 23 - 25°C und eine relative Luftfeuchtigkeit von 40 - 50% aufzuweisen.

Das Versuchskollektiv wurde in zwei Gruppen geteilt. Der Gruppe 1 wurde einmal wöchentlich 50 mg/kg KG

Phenyl-dimethyl-triazen (Kp 114°C bei 11 Torr) subcutan im Sacralbereich appliziert.

Die mittlere Induktionszeit betrug 185 (149 - 292) Tage bei einer mittleren Gesamtdosis von 445 (285 - 620) mg/Tier.

Der Gruppe 2 wurden 6 mg/kg KG N-methyl-N-nitrosoharnstoff in 10 ml Leitungswasser, das mit primären Natriumphosphat auf pH 6,2 eingestellt wurde, als "Trinkwasser" ebenfalls einmal in der Woche angeboten; die mittlere Induktionszeit betrug 430 (353 - 570) Tage bei einer mittleren Gesamtdosis von 340 (270 - 410) mg/Tier.

Die Tumorausbeute bei beiden Gruppen zeigt, daß mit MNH vorwiegend Neoplasien des zentralen NS erzeugt werden können, während mit PDT überwiegend Blastome des peripheren NS induziert werden.

d.) Histologische Untersuchung

Zur histologischen Untersuchung wurde das Material in 4%-igem bzw. 6%-igem neutralen Formol, das 1,5% NaCl enthielt, fixiert; danach wurde das Tumormaterial in Paraplast^R eingebettet. Als Routinefärbungen sind Hämatoxylin-Eosin-, NISSL-, Luxol-fast-blue- und MASSON-GOLDNER-Färbung durchgeführt worden. Ferner kamen in einigen Fällen die Metallimprägnationen nach WILDER, BODIAN und GLOBUS zur Anwendung.

e.) Klassifikation der Tumoren

Die Einordnung der untersuchten spontanen wie experimentellen Tumoren des NS und seiner Hüllen wurde nach dem von ZÜLCH (1956) ausgearbeiteten Einordnungsprinzip unter Berücksichtigung der Angaben über das "Grading" von RINGERTZ (1950), MÜLLER und SCHRÖDER (1968) sowie von STAVROU

et al. (1970) vorgenommen.

Das von ZÜLCH vorgelegte Einordnungsschema für menschliche Tumoren des NS und seiner Hüllen berücksichtigt zum einen das vielgestaltige Erscheinungsbild der Neoplasmen, zum anderen auch deren biologisches Verhalten.

STAVROU (1971) schlägt für experimentelle Gliome ein dreistufiges Schema, bestehend aus primär isomorphen und heteromorphen Gliomen, wozu Oligodendrogliome und Astrozytome zählen, und pleomorphen Gliomen vor; der letzte Typ ist durch ausgeprägte progressive und regressive Veränderungen gekennzeichnet.

Zur Frage der Einteilung von Gliomen bei Tieren nehmen STAVROU et al. Stellung. Sie geben dabei zwei Hauptgruppen, primär isomorphe und primär heteromorphe Gliome (Mischgliome) an. Alles, was sich hierdurch nicht eindeutig klassifizieren läßt, wird einem "pool" (Glioblastom) zugeordnet.

Die Abstufung des Gliommaterials erfolgt in zwei Malignitätsgraden I und II. Der Grad I entspricht einem relativ langsam wachsenden histologisch gutartigen Tumor und der Grad II drückt erste morphologische Anzeichen einer beginnenden Malignität aus. Das hochmaligne Glioblastom entspricht dem Grad III nach RINGERTZ.

f.) Elektrophoretische LDH-IE Auftrennung

Für die Agargel-elektrophoretische LDH-Isoenzymauf-trennung nach KNEDEL et al. (1966) wurde aus einem entsprechenden Tumorstück ein 20%-iges Homogenat unter Zusatz von Phosphatpuffer pH 7,0 hergestellt; anschließend wurde das Homogenat 20 min bei 20.000 U/min und 0°C zentrifugiert. Aus dem Überstand wurden dann die Proben für die Isoenzymdarstellung entnommen. Die Auftrennung wurde in der Elektrophoreseapparatur "Mikrophor" mit "Frigophor" der Fa. BOSKAMP Gerätebau KG Hersel vorgenommen.

Der Nachweis der einzelnen LDH-IE Fraktionen auf der Agargel-Schicht erfolgte nach der von VAN DER HEIM (1962) angegebenen Methode.

g.) Quantitative Auswertung der LDH-IE

Nachdem die Agargel-Schicht vollkommen transparent war, erfolgte die quantitative Auswertung der einzelnen LDH-IE Banden auf photoelektrischem Weg. Wir benutzten den Extinktionsschreiber 3 mit Integralschreiber 5 der Fa. CARL ZEISS. Das simultan zu den Extinktionskurven geschriebene Integral wurde von einem, in 100 Einheiten (Relativprozent) für das Gerät genormten Lineal direkt abgelesen.

Lagen die Aktivitäten der einzelnen LDH-Isoenzyme über der ausgelegten Kapazität des Integralschreibers, so wurden die aufgezeichneten Extinktionskurven ausgeschnitten, zusammen auf einer Analysenwaage gewogen und das Gewicht gleich 100 gesetzt. Das Gewicht der einzelnen LDH-IE Kurven wurde ebenfalls bestimmt und in Prozenten des Gesamtgewichts ausgedrückt. Wird immer Papier gleicher Güte verwendet, so liegt die Fehlerquelle gegenüber obigem Verfahren unter 5%, d.h. beide Meßverfahren können nebeneinander verwandt werden, ohne daß die Meßgenauigkeit wesentlich darunter leidet.

h.) Statistische Meßgrößen

Als statistische Meßgrößen wurde die auf Relativprozentbasis beruhenden H- bzw. M-Monomeren der LDH-IE herangezogen. Analog der tetrameren Zusammensetzung der LDH_1 (H_4) muß diese zu 100% aus H-Anteilen aufgebaut sein. Die Hybride LDH_2 (H_3M), LDH_3 (H_2M_2) und die LDH_4 (HM_3) müssen gemäß der mathematischen Kombination zu 75%, 50% und 25%

aus H-Anteilen bestehen; die LDH₅ (M₄) dagegen hat keinen H-Monomergehalt.

Die Addition der einzelnen LDH-IE Anteile ergibt den Gesamt-H-Monomergehalt der Lactatdehydrogenase. Die Differenz zu 100 stellt den Gesamtanteil an M-Monomeren dar. Aus den entsprechenden H- und M-Anteilen wird eine Verhältniszahl, der H/M-Quotient, gebildet. Ein Wert <1 spiegelt fallende H-Anteile, ein Wert $\approx$ 1 etwa gleiche H- und M-Anteile und ein Wert >1 steigende H-Anteile wider. Ergänzen sich die relativen Prozentangaben der fünf LDH-IE Fraktionen nicht immer zu 100%, so liegt dies daran, daß die angegebenen Werte Mittelwerte mehrerer Messungen sind.

1.2. Morphologie spontaner und experimenteller Tumoren des NS und seiner Hüllen

Im Rahmen dieser Arbeit konnte, wie bei STAVROU (1971), kein grundsätzlicher Unterschied in der Morphologie zwischen spontanen und experimentellen NS-Tumoren diagnostiziert werden.

Auffallend ist aber, daß beim Hund das primär heteromorphe Gliom prozentual zur Gliomfrequenz relativ häufig anzutreffen ist. So geben STAVROU et al. (1970) unter 46 klassifizierten Gliomen des Hundes 12 als primär heteromorph an und bei eigenen Untersuchungen wurden von sieben Gliomen zwei als primär heteromorph angesehen. Im Gegensatz dazu war bei 93 menschlichen Gliomen kein primär heteromorphes Gliom anzutreffen.

In Übereinstimmung mit DAHME und SCHIEFER (1960) darf herausgestellt werden, daß die Mehrzahl spontaner Gliatumoren des Hundes maligne Charakterzüge tragen. Bei ei-

ner Vielzahl menschlicher Gliome jedoch ist durchaus noch eine gewebliche Benignität zu erkennen, wenn auch - biologisch gesehen - eine Gutartigkeit in Frage gestellt werden kann.

Wie aus der Darstellung von FRAUCHIGER und FRANKHAUSER (1957) entnommen werden darf, besteht in der vergleichenden Morphologie spontaner und experimenteller NS-Tumoren höchstens ein Unterschied im Reifegrad des Blastoms bei den verschiedenen Species. Auch LUGINBÜHL (1962 a, 1962 b, 1964 a, 1964 b) ist ähnlicher Auffassung, wenn er anhand eines relativ umfangreichen Materials von NS-Tumoren bei Tieren zu deren Morphologie Stellung nimmt.

Treten bei spontanen NS-Tumoren verschiedener Species noch gutartige und bösartige Formen gleichermaßen nebeneinander auf, so ändert sich dies bei den experimentellen NS-Tumoren dahingehend, daß meistens maligne Neoplasien anzutreffen sind, also Tumoren, deren Entdifferenzierung schon weit fortgeschritten ist. Dies gilt sowohl für die zentralen als auch für peripheren NS-Tumoren der Ratte.

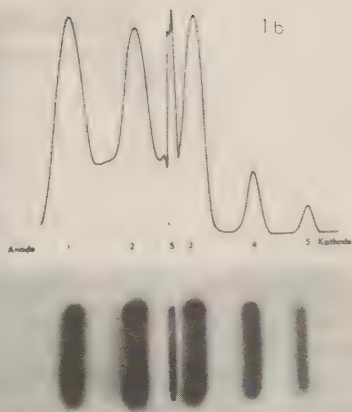
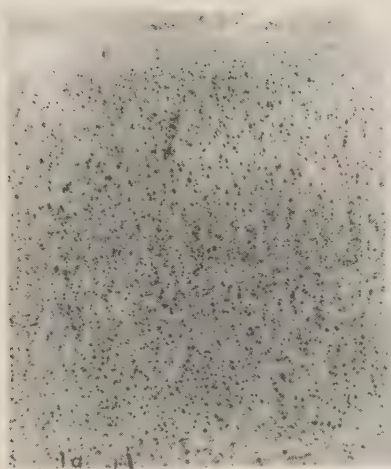
1.3. LDH-IE Verteilung im normalen Hirn

Die phylogenetische Stellung des Rhesusaffen in der Vertebratenreihe erlaubt Analogieschlüsse hinsichtlich der LDH-IE Verteilung im normalen Hirn bei Mensch und Carnivoren. Deshalb wird als Beispiel für die nachfolgend beschriebenen Species das LDH-IE Muster im normalen Hirn eines fünfjährigen weiblichen Rhesusaffen dargestellt. (Abb. 1a, b)

Im normalen Cortex überwiegen die anodischen Fraktionen LDH_{1-2} sowie die LDH_3 , die kathodischen erheblich (Tab. 2). Es darf aber an dieser Stelle vorweggenommen werden, daß sich in den verschiedenen Hirnregionen ein unterschiedliches LDH-IE Muster ergibt und der in Tab. 2 aufgeführte Wert

Abb. 1 a: Normaler Cortex eines fünfjährigen weiblichen Rhesusaffen (HE-Färb., 48 x)

Abb. 1 b: Pherogramm mit densitometrischer Registrierung der LDH Aktivitäten im normalen Cortex. Die LDH₁₋₃ ist etwa mit gleichen Aktivitäten vertreten, die LDH₄₋₅ haben deutlich abfallende Aktivitätsraten.



nur die Durchschnittsaktivität des normalen Cortex repräsentiert.

1.4. LDH-Isoenzymverteilung spontaner Tumoren des NS
und seiner Hüllen beim Menschen

a.) Oligodendrogliome (Abb. 2 a, b; Tab. 2)

Beim Oligodendrogliom treten nicht regelmäßig fünf Isoenzyme auf. Die LDH_4 und/oder LDH_5 kann fehlen und/oder nur dezent angedeutet sein. Markant liegt das Gewicht der IE Verteilung auf den Banden LDH_1 und LDH_2 , die somit das Oligodendrogliom elektrophoretisch charakterisieren.

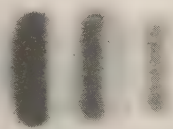
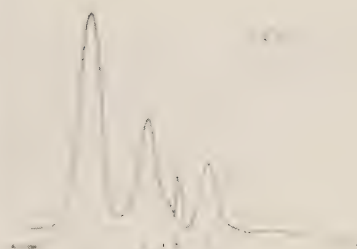
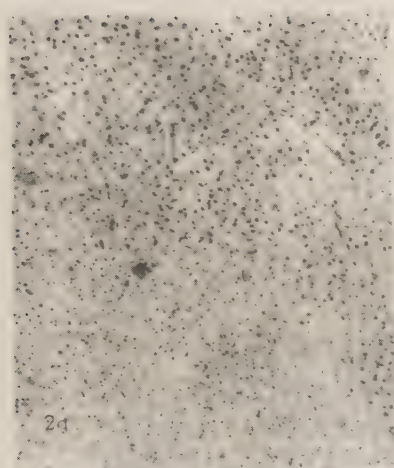
Das Oligodendrogliom I weist noch über 50% seiner Aktivität in der anodischen Fraktion LDH_1 auf. Die Hälfte der Aktivität verteilt sich beim Oligodendrogliom II schon auf beide anodischen Fraktionen, die LDH_{1-2} . Betrachtet man noch die Hybridform LDH_3 , so übersteigt der H-Anteil den M-Anteil erheblich, was sich auch in dem hohen H/M-Quotienten niederschlägt. Die Oligodendrogliome des Menschen stehen hinsichtlich des H-Anteils und des H/M-Quotienten an der Spitze aller untersuchten Tumoren; bei keiner anderen Species werden vergleichsweise ähnlich hohe Werte gefunden.

b.) Astrozytome (Abb. 3 a, b; 4 a, b; Tab. 2)

Im allgemeinen sind beim Astrozytom I, vor allem aber beim Astrozytom II, fünf Isoenzyme zu sehen. Die LDH_1 bzw. LDH_2 ist nicht mehr so betont wie beim Oligodendrogliom. Die Isoenzymaktivität ist hauptsächlich in der LDH_1 , LDH_2 und LDH_3 zu registrieren, wobei einmal die eine oder andere

Abb. 2 a: Oligodendrogliom I des Menschen
(HE-Färb., 120 x)

Abb. 2 b: Die LDH-Aktivität konzentriert sich in
der LDH_1 mit geringeren Anteilen in der
 LDH_2 und LDH_3 ; die LDH_{4-5} ist nicht aus-
wertbar vertreten.



Bande stärker hervortreten kann. Auffallend ist aber, daß die kathodisch wandernde Fraktion LDH_4 fast regelmäßig in die Isoenzyme deutlich eingeschlossen ist.

Beim Astrozytom II zeichnet sich schon ein beginnender Kathoden-shift ab, da die am weitesten kathodisch wandernde Fraktion LDH_5 gut meßbar vertreten ist. Gemäß der Isoenzymverteilung beginnt der H-Monomerengehalt zu sinken und der H/M-Quotient erreicht ebenfalls nicht mehr jene Werte, wie man sie bei Oligodendrogliomen antrifft.

Vergleicht man die verschiedenen Differenzierungsgrade der Astrozytome mit dem jeweiligen Isoenzymmuster, so scheint es, daß die LDH_1 beim protoplasmatischen Astrozytom (Abb. 3 a, b) stärker in Erscheinung tritt als dies beim fibrillären (Abb. 4 a, b) der Fall ist.

c.) Glioblastome (Abb. 5 a, b; Tab. 2)

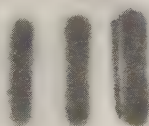
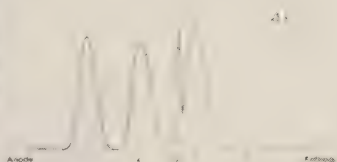
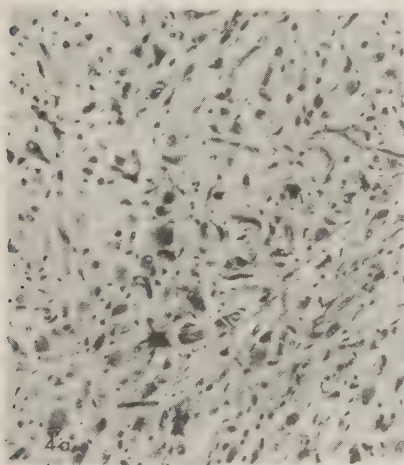
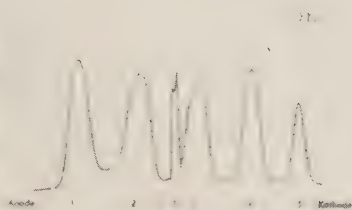
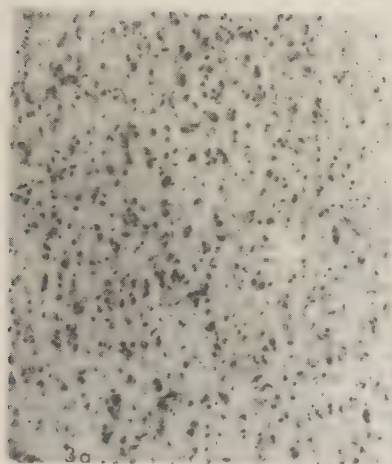
Das Glioblastoma multiforme zeigt mit Regelmäßigkeit fünf LDH-IE Fraktionen. Hervorstechend ist der ausgeprägte Kathoden-shift, den man bei der Auftrennung erhält. Verteilten sich die Isoenzyme beim Oligodendrogliom noch primär auf die LDH_1 und LDH_2 , beim Astrozytom vornehmlich schon auf die Banden LDH_1 , LDH_2 und LDH_3 und geringen LDH_{4-5} -Anteilen, so verschiebt sich dieses Bild beim Glioblastoma multiforme zu den Fraktionen LDH_3 , LDH_4 und LDH_5 . Die LDH_5 , also jenes Isoenzym aus gleichen Anteilen von H- und M-Monomeren, kann meist als deutlich stärkste Fraktion angesprochen werden, aber die LDH_4 und die LDH_5 prägen das Isoenzymmuster des Glioblastoms mit. Entsprechend der relativ starken kathodischen Aktivitäten

Abb. 3 a: Protoplasmatisches Astrozytom I-II
des Menschen (HE-Färb., 120 x)

Abb. 3 b: Es treten im Pherogramm fünf gut getrennte
LDH-IE auf, wobei die kathodischen Fraktio-
nen LDH_{4-5} schon deutlich an Aktivität ge-
winnen. Es zeichnet sich ein beginnender
Kathoden-shift ab.

Abb. 4 a: Fibrilläres Astrozytom I des Menschen
(HE-Färb., 120 x)

Abb. 4 b: Es zeigt sich im Pherogramm eine angedeutete
Verschiebung des Maximums der LDH-IE Aktivi-
tät von LDH_1 nach LDH_3 . Die LDH_5 ist nicht
nachweisbar.



und zusammen mit der LDH_3 steigt der H-Anteil selten über die 50% Grenze an, d.h. der H/M-Quotient ist ≈ 1 .

Zusammenfassend kann über das LDH-IE Muster der drei untersuchten glialen Tumoren gesagt werden, daß der Kathoden-shift vom Oligodendrogliom ausgehend, über das Astrozytom zum Glioblastom augenfällig ist. Noch klarer wird das Ergebnis dann, wenn man sich von der Vorstellung des statischen IE-Musters befreit und nur die funktionellen Einheiten, die prozentuale Verteilung der H- und M-subunits bzw. den H/M-Quotienten betrachtet, wie es in der Tab. 3 übersichtsmäßig dargestellt wird.

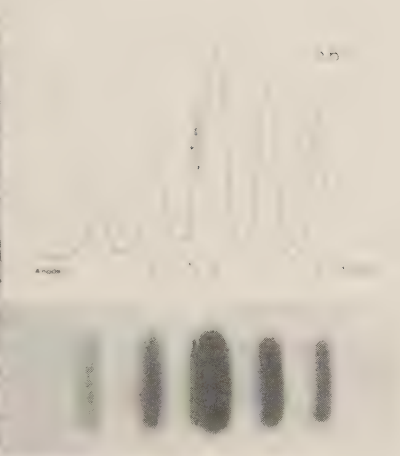
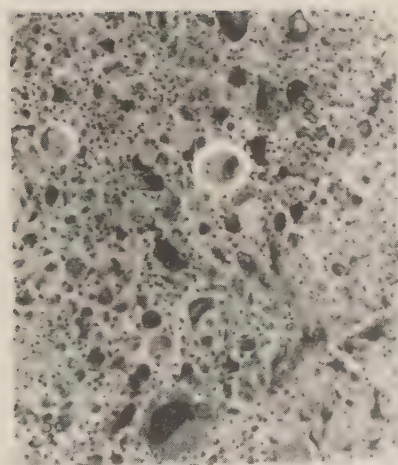
Tab. 2: LDH-IE Verteilung im normalen Hirn und bei Gliomen des Menschen

Material	Aktivitäten in rel.% ($\bar{x}$)					H($\bar{x}$) in rel.%	H/M	
	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅		$\bar{x}$	$\bar{x}_g$
Frontalhirn ⁺ (n=4)	33,0	28,0	20,0	17,0	2,0	68,2	2,14	
Oligodendro- gliom (n=12)	57,5	25,2	13,6	4,0	1,7	84,0	6,12	5,60
Astrozytom (n=33)	31,8	35,9	26,9	4,6	1,5	72,7	2,84	2,86
Glioblastom (n=48)	8,4	17,5	38,1	24,2	13,1	45,1	0,88	1,17

+ SANO et al. (1965), Autopsiematerial aus dem Frontalhirn des Menschen, Agargel-Elektrophorese

Abb. 5 a: Glioblastoma multiforme des Menschen
(HE-Färb., 120 x)

Abb. 5 b: Das Pherogramm und die densitometrische Registrierung zeigen fünf LDH-Isoenzyme mit markanten Kathoden-shift. Die LDH₃₋₅ haben an Aktivität zugenommen, die anodischen Fraktionen LDH₁₋₂ dagegen haben an Aktivität verloren.



Tab. 3: Vergleich der H-Anteile ($\bar{x}$) und der H/M-Quotienten ($\bar{x}$) bei Gliomen des Menschen

Gliomtyp	H-Anteil in rel. % ($\bar{x}$)	H/M-Quotient ($\bar{x}$)
Oligodendro- gliom (n=12)	84,0 ($s_{\bar{x}} = 7,23$)	6,16 ($s_{\bar{x}} = 2,5$)
Astrozytom (n=33)	72,7 ($s_{\bar{x}} = 7,10$)	2,84 ($s_{\bar{x}} = 1,10$)
Glioblastom (n=48)	45,1 ($s_{\bar{x}} = 9,0$)	0,88 ($s_{\bar{x}} = 0,34$)

Tab. 4: Einzeldarstellung der LDH-IE beim Ependymom, Neurinom⁺ und Medulloblastom des Menschen

Tgb.Nr.	Histopathologi- sche Diagnose	Aktivitäten in rel.%					H rel.%	H/M
		LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅		
190/70	Ependymom I-II	9,1	28,2	41,2	15,6	6,0	54,7	1,21
228/70	Ependymom I-II	15,2	28,1	25,7	14,8	16,2	52,8	1,12
297/70	Ependymom I	20,8	27,8	27,0	14,9	9,5	58,8	1,41
107/71	Ependymom I	29,3	29,6	24,7	12,0	4,3	67,8	2,04
29/72	Ependymom I	14,9	75,1	10,0			76,3	2,97
206/70	Neurinom I-II	2,9	21,7	55,7	17,0	2,7	51,2	1,05
266/71	Neurinom I-II	2,6	8,2	65,4	22,5	1,2	47,0	0,89
388/71	Neurinom II	4,7	14,2	41,1	16,7	22,7	40,0	0,67
233/72	Neurinom I	19,3	64,7	16,0			75,8	3,13
456/72	Neurinom I	3,9	17,2	62,5			52,1	1,09
14/73	Neurinom I-II	2,1	24,2	38,0	27,6	8,1	46,3	0,87
47/72	Medulloblastom	55,7	14,9	16,3	7,1	6,0	76,7	3,29
263/72	Medulloblastom	57,7	23,7	15,7	2,9		83,9	5,24
506/72	Medulloblastom	5,2	4,3	24,0	17,4	49,1	24,7	0,32

+ Bei den Neurinomen handelt es sich um Akustikusneurinome.

d.) Meningome (Tab. 5)

Das Meningom weist im allgemeinen fünf LDH-IE auf. Die Mehrzahl der 37 analysierten Tumoren besitzen etwa gleiche Anteile an H- und M-Monomeren. Die LDH₃ tritt prozentual am stärksten auf, gefolgt von der LDH₂ und von der LDH₄. Die nur aus dem Monomer H bzw. M aufgebauten Fraktionen LDH₁ bzw. LDH₅ bleiben in ihren Aktivitätsraten bemerkenswert unter denen der Hybridformen. Der H-Anteil bzw. der H/M-Quotient bewegt sich in Meßgrößen, wie man sie bei Glioblastomen erhält. Allein ein Vergleich beider ist wegen der biologischen Inkongruenzen nicht gestattet.

Tab. 5: Durchschnittsaktivitäten ($\bar{x}$), H-Anteil ($\bar{x}$) und H/M-Quotient ($\bar{x}$) bzw. ($\bar{x}_g$) der LDH-IE von 37 untersuchten Meninxtumoren

Meningome	Aktivität in rel. %					H-Anteil in rel. %	H/M-Quotient	
	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅		$\bar{x}$	$\bar{x}_g$
n=37	11,5	24,2	39,5	19,2	8,4	54,1	1,30	1,19
$s_{\bar{x}}$	7,8	10,2	8,3	10,0	4,8	9,5	0,56	

1.5. Spontane Tumoren des NS und seiner Hüllen beim Hund

a.) Oligodendrogliome

Bei vier untersuchten Oligodendrogliomen des Hundes treten nur in einem Fall fünf Isoenzyme auf; dabei zeigt sich eine Verteilungstendenz der Aktivität der

LDH-IE in Richtung auf die LDH_{1-3} , wobei eine alternative Betonung von LDH_2 und/ oder LDH_3 festgestellt werden kann. Die LDH des Oligodendroglioms I baut sich noch zu 70% aus H-Monomeren auf, während beim Oligodendrogliom II der H-Monomergehalt auf etwa 60% absinkt.

b.) Sonstige Neuroepitheliome

Das LDH-IE-Bild eines kleinzelligen Astrozytoms beim Boxer zeigt vier Isoenzymbanden, wobei die Hauptaktivität in der LDH_1 liegt, gefolgt von der LDH_2 und LDH_3 . Die kathodische Fraktion LDH_4 ist nur gering an der Gesamtaktivität beteiligt.

Fünf LDH-IE Banden treten bei einem Ependyom I eines Pudels auf. Die anodische Fraktion LDH_2 zeigt die höchste Aktivität, während die LDH_1 und LDH_3 mit etwa gleichen Aktivitätsraten vertreten sind. Die kathodischen Fraktionen LDH_{4-5} haben nur einen geringen Anteil an der Gesamtaktivität aufzuweisen. Eine biologische Wertung des LDH-IE Musters hinsichtlich der Dignität des kleinzelligen Astrozytoms bzw. Ependyoms beim Hund kann bei je einem bearbeiteten Fall nicht vorgenommen werden.

Das primär heteromorphe Gliom des Hundes zeigt einen Kathoden-shift dergestalt, daß die LDH_1 und LDH_2 nicht mehr meßbar vertreten sind und die LDH_3 bzw. LDH_4 das Maximum der Aktivität ausbilden. Der niedrige H/M-Quotient ist als Ausdruck der starken Betonung der kathodischen LDH-Banden zu sehen.

Zusammenfassend darf bei den Neuroepitheliomen des Hundes wohl auch von der Tendenz der Rechtsverschiebung im LDH-Pherogramm gesprochen werden. Die H-Anteile bzw. die H/M-Quotienten nehmen von den gut differenzierten Blastomen (Oligodendrogliom) zu den entdifferenzierten (primär heteromorphes Gliom) hin ab. Die niedrigen H/M-Quotienten lassen ein fortgeschrittenes Stadium der Entdifferenzierung vermuten.

Tab. 6: LDH-IE Verteilung bei spontanen Neuro-
epitheliomen des Hundes

Tgb.Nr.	Rasse	Alter	Diagnose	Aktivität in rel. %					H-Ant.	
				LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅	rel.%	H/M
149/70	Boxer	10 J.	Oligo.I-II	11,7	34,9	40,5	12,9		61,3	1,5
21/71	Boxer	11 J.	Oligo.I-II	11,9	36,4	45,8	5,9		63,4	1,7
88/71	Boxer	9 J.	Oligo.I	29,1	43,8	19,6	6,3	1,3	73,1	2,7
421/72	Boxer	10 J.	Oligo.I-II	10,7	27,5	61,7			61,1	1,5
265/70	Boxer	12 J.	Kleinzell. Astrozytom I	41,5	33,2	20,2	5,1		77,7	3,4
146/72	Pudel	8 J.	Ependymom I	27,0	33,0	25,1	9,0	5,9	66,8	1,9
511/72	Pudel	9 J.	prim.het. Gliom II			31,0	41,8	28,0	25,7	0,3
537/72	Boxer	11 J.	prim.het. Gliom II			9,0	78,0	13,0	24,0	0,3

c.) Meningome (Tab. 7)

Bei den sechs untersuchten Meningomen des Hundes treten immer die LDH₂, LDH₃ und LDH₄ auf; die LDH₁ und die LDH₅ können fehlen. Die kathodisch wandernde LDH₄ und die LDH₃ stellen abwechselnd die Hauptaktivitäten dar. Bemerkenswert ist, daß das sarkomatös entartete Meningom (Tgb. Nr. 279/70) noch eine starke LDH₂-Fraktion besitzt.

Der H-Anteil bzw. der H/M-Quotient liegt in etwa in Wertebereichen, wie man sie bei Meningomen des Menschen

registrieren kann. Es scheint jedoch der Kathoden-shift in Richtung LDH_4 beim Hund klarer hervorzutreten, was nicht zuletzt wieder als das Ergebnis einer stärkeren Entdifferenzierung zu werten ist.

Das Meningom einer 10-jährigen Katze weist auf ähnliche Verhältnisse hinsichtlich der LDH-IE Verteilung hin: Das Maximum der LDH-Aktivität ist hier in der LDH_4 zu verzeichnen.

Tab. 7: LDH-IE Verteilung bei spontanen Meningomen des Hundes und einer Katze

Tgb.Nr.	Rasse	Alter	Diagnose	Aktivität in rel.%					H-Ant. rel.%	H/M
				LDH_1	LDH_2	LDH_3	LDH_4	LDH_5		
181/70	Pudel	?	fibrom. Meningom	7,0	12,2	39,0	41,8		46,1	0,86
276/70	Malte-12 ser	J.fibrom. Meningom		13,0	24,0	31,1	31,9		55,2	1,23
300/70	Dackel	13J.endothel. Meningom			7,4	42,4	50,2		39,2	0,64
311/70	Pudel	11J.endothel. Meningom		1,5	15,1	39,4	44,4		43,4	0,77
279/70	Spaniel	7 J.sarkom. Meningom		14,7	40,4	26,9	18,0		62,9	1,69
75/72	Schnau- zer	12J.fibrom. Meningom		2,4	1,4	33,4	62,8		35,7	0,55
487/72	Katze	10J.endothel. Meningom		2,0	5,0	17,0	76,0		33,2	0,49

1.6. Experimentelle neurogene Tumoren der Ratte

a.) Tumoren des Zentralen Nervensystems (ZNS)

Im ZNS der Ratte konnten Oligodendrogliome, Astrozytome, pleomorphe Gliome und primär heteromorphe Gliome induziert werden.

Beim Oligodendrogliom treten fünf Isoenzyme auf und ihr Verteilungsmuster ist verhältnismäßig weit gestreut. (Tab. 8)

Das Astrozytom zeigt ebenfalls fünf Isoenzyme mit wechselndem Verteilungsmuster (Tab. 8).

Bei beiden Gliomtypen ist entsprechend dem Anaplasiegrad eine Tendenz zur Rechtsverschiebung im Pherogramm zu erkennen, die sich in der Abnahme der H-Anteile und des H/M-Quotienten ausdrückt. Eine deutliche Zäsur zwischen Oligodendrogliomen und Astrozytomen hinsichtlich ihres LDH-Bildes kann zwar nicht herausgestellt werden, jedoch ist der Unterschied zum pleomorphen Gliom augenfällig.

Das pleomorphe Gliom (Abb. 6 a, b; Tab. 8), das dem menschlichen Glioblastom entspricht, kann auch fünf Isoenzyme aufweisen; doch ist im allgemeinen die LDH_1 nur in Spuren, die LDH_2 und LDH_3 mit geringen Aktivitäten an der Gesamtaktivität beteiligt. Jene Isoenzyme, die in Geweben mit vorwiegend anaerober Stoffwechselsituation biochemische Reaktionen katalysieren, die LDH_4 und LDH_5 , sind auffallend aktiv, wobei die LDH_5 die Hälfte der Gesamtaktivität auf sich vereinigen kann. Die hohe Beteiligungsquote an M-Monomeren am strukturellen Aufbau der LDH ist auch aus dem äußerst niedrigen H/M-Quotienten zu ersehen.

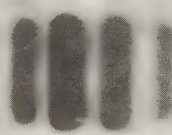
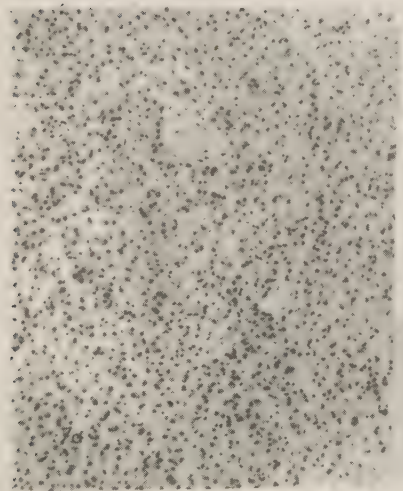
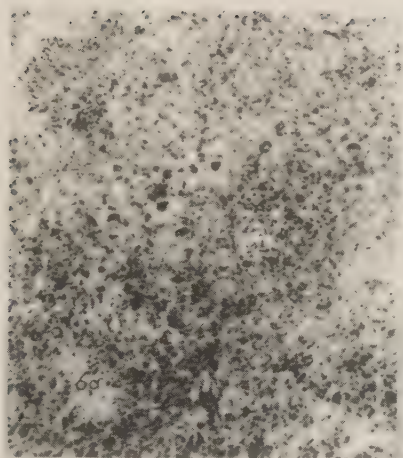
Das LDH-IE Muster des primär heteromorphen Glioms paßt

Abb. 6 a: Experimentelles pleomorphes Gliom der Ratte (HE-Färb., 120 x)

Abb. 6 b: Im Pherogramm ist nur noch die LDH₃₋₅ meßbar vertreten, wobei der Aktivitätsgipfel sich in der LDH₅ ausbildet.

Abb. 7 a: Experimentelles primär heteromorphes Gliom der Ratte (HE-Färb., 120 x)

Abb. 7 b: Es treten fünf LDH-IE auf. Entsprechend der Komposition aus astrozytären und oligodendrozytären Zellelementen ist die Aktivität in diesem Mischgliom vorwiegend auf die Fraktionen LDH₂, LDH₃ und LDH₄ verteilt.



sich den Arealen, die den Tumor aufbauen, in etwa an. Überwiegen oligodendrozytäre Strukturen, so ist ein Aktivitätsgipfel in der LDH_{2-3} zu registrieren, während bei vorwiegend astrozytären Zellelementen die LDH_{2-4} besonders hervortritt (Abb. 7 a, b).

Zusammenfassend kann über das Verhalten der LDH-IE bei experimentellen Gliomen der Ratte gesagt werden, daß sich hier ein ähnliches Bild wie bei den Gliomen des Menschen und des Hundes ergibt. Mit fortschreiten der Entdifferenzierung des Blastoms nehmen die anodischen Fraktionen ab und die kathodischen gewinnen an Aktivität. Weiter ist festzustellen, daß experimentelle Gliome die weitaus niedrigsten H-Anteile bzw. H/M-Quotienten aufzuweisen haben, ein Ergebnis, das mit der hohen Stufe der Entdifferenzierung, die Rattengliome erreichen, gut in Einklang zu bringen ist.

Tab. 8: LDH-IE Verteilung im normalen Rattenhirn
und bei experimentellen Gliomen

Tgb.Nr.	Histopathologische Diagnose	Aktivität in rel.%					H-Ant. rel.%	H/I
		LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅		
	Frontalhirn ($\bar{x}$)	44,2	37,4	12,1	4,5	1,3	79,5	3
123/70	Oligodendrogliom I	6,2	30,5	33,3	20,7	9,3	50,8	1
290/70	Oligodendrogliom I-II	15,4	26,0	20,4	21,4	16,8	50,4	1
375/70	Oligodendrogliom I-II	2,7	24,3	32,9	21,4	14,2	47,1	0
332/70	Astrozytom I	23,1	26,8	18,7	16,7	14,7	56,5	1
90/71	Astrozytom II	10,9	20,6	24,6	22,1	21,8	44,1	0
233/71	Astrozytom I-II	1,2	28,5	35,6	26,3	7,0	48,4	0
290/69	Pleomorphes Gliom	6,0	7,2	6,0	21,8	59,0	19,8	0
291/69	Pleomorphes Gliom	1,6	1,5	20,1	23,4	51,4	18,6	0
411/69	Pleomorphes Gliom			8,0	24,0	68,0	10,0	0
31/70	Pleomorphes Gliom			4,0	30,0	66,0	9,5	0
68/70	Pleomorphes Gliom				13,0	87,0	3,2	0
185/70	Pleomorphes Gliom	3,2	16,0	28,3	25,8	26,7	35,7	0
288/70	Pleomorphes Gliom	1,5	2,0	5,5	31,7	59,3	13,6	0
113/70	Pleomorphes Gliom	2,0	2,0	5,0	19,0	72,0	10,7	0

b.) Tumoren des Peripheren Nervensystems (PNS)

Bei den experimentellen Neurinomen der Ratte handelt es sich um solche des Plexus brachialis, des Plexus lumbosacralis, des N. ischiadicus und des N. trigeminus sowie der Cauda equina.

Die experimentellen Tumoren zeigen im Pherogramm keine oder nur Spuren einer Aktivität der LDH₁ und LDH₂. Die Gesamtaktivität verteilt sich vornehmlich auf die LDH₃₋₅, wobei die LDH₃ die schwächere Fraktion bleibt und die LDH₄₋₅, besonders die LDH₅, hohe prozentuale Aktivitätsraten aufweist.

Die sehr niedrigen H-Anteile bzw. H/M-Quotienten passen gut in das Bild der entdifferenzierten experimentellen Gliome, da auch die experimentellen Rattenneurinome ein sehr entdifferenziertes Stadium erreicht haben (Tab. 9).

Tab. 9: Durchschnittsaktivität ($\bar{x}$), H-Anteil und H/M-Quotient ($\bar{x}$) bzw. ($\bar{x}_g$) der LDH-IE von PNS-Tumoren der Ratte.

Neurinome	Aktivität in rel. %					H-Anteil rel. %	H/M-Quot.	
	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅		($\bar{x}$)	($\bar{x}_g$)
n=39	2,7	3,1	12,3	31,5	55,9	15,2	0,18	0,24
$s_{\bar{x}}$	1,8	1,9	9,5	10,3	17,6	7,5	0,10	

1.7. Statistische Auswertung

Bei den Gliomen des Menschen weisen die Oligodendrogliome den höchsten H-Monomerengehalt auf, gefolgt von den Astrozytomen und Glioblastomen (Tab. 3). Hinsichtlich der H/M-Quotienten und H-Anteile der drei glialen Tumoren des Menschen konnten STAVROU et al. (1973) darlegen, daß sich die Differenzen der Mittelwerte statistisch signifikant verhalten, d.h. diese Tumoren haben einen sie charakterisierenden Wertebereich, bezogen auf die Verteilung der H- und M-Monomeren.

Hier soll der Versuch unternommen werden, eine hinreichende statistische Aussage über eventuell bestehende Unterschiede im LDH-IE Muster von Tumoren des ZNS bzw. jener des PNS zu treffen. Da es sich um Tumoren neuroektodermalen Ursprungs handelt (STAVROU et al., 1971, PFEIFFER et al., 1972; STAVROU und HAGLID, 1973), ist ein direkter Vergleich gestattet. Es werden die H/M-Quotienten ($\bar{x}_{gj}$) der spontanen Oligodendrogliome, Astrozytome und Glioblastome des Menschen sowie der experimentellen Neurinome der Ratte miteinander verglichen.

Nachdem das zu prüfende Material histogenetisch verwandt ist, erscheint es gerechtfertigt anzunehmen, daß die vier neuroektodermalen Tumoren auch ein nahe verwandtes LDH-IE Muster haben, also die Hypothese H_0 aufzustellen: die Mittelwerte der H/M-Quotienten unterscheiden sich nicht in den Grundgesamtheiten, d.h. $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$. Andererseits kann aber berechtigt vermutet werden, daß die Stoffwechselsituation der die Tumoren aufbauenden Zellen jeweils eine unterschiedliche ist, was notwendigerweise einen Unterschied im LDH-IE Muster mit sich bringen muß. Damit ist gegen die obige Annahme H_0 die Hypothese H_1 zu setzen, daß sich die Mittelwerte ($\bar{x}_{gj}$) der H/M-Quotienten in den Grundgesamtheiten unter-

scheiden, d.h. $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$.

Zur Prüfung der Differenzen der Mittelwerte ($\bar{x}_{gj}$) der H/M-Quotienten oben genannter Tumoren ist eine einfache Varianzanalyse notwendiger und vorbereitender Schritt. Der Verteilungsmodus der Zufallsvariablen (x_i) der vier Tumorgruppen wurde nicht geprüft, da eine Nichtnormalität nur einen geringen Einfluß auf den F-test hat (SCHEFFE, 1964).

Tab. 10: Tafel der Varianzanalyse

Variabilität	SQ	FG	MQ
Zwischen den Tumoren	390,40	3	130,13
Innerhalb der Tumoren	205,88	128	1,60
Total	596,29	131	

$$F = \frac{MQZ}{MQI} = \frac{130,13}{1,60} = 80,91$$

Der Vergleich des errechneten F-Wertes, $F=80,91$ mit dem Tafelwert (SNEDECOR, 1948) $F_{3;128;p=0,01} = 4,78$ zeigt, daß dieser größer ist als der vertafelte Wert, d.h. die Variabilität zwischen den Mittelwerten ($\bar{x}_{gj}$) der H/M-Quotienten der vier neuroepithelialen Tumoren

ist größer als innerhalb der Zufallsvariablen (x_i) der einzelnen Tumortypen. Die Hypothese H_0 ist daher abzulehnen.

Prüfverfahren auf Signifikanz der Differenzen der Mittelwerte ($\bar{x}_{gj}$) der H/M-Quotienten der vier neuroepithelialen Tumoren.

Da es sich um mehr als zwei Mittelwerte handelt und die Stichproben verschiedenen Umfang haben, aus denen die Mittelwerte stammen, wird der "new multiple range test" von DUNCAN verwendet. Ein Unterschied mehrerer Mittelwerte gilt bei diesem Test dann als gesichert, wenn ihre Differenzen die im Test für eine festgelegte Sicherheitswahrscheinlichkeit berechnete Grenzdifferenz R_p überschreiten.

Haben die Stichproben verschiedene Umfänge n , so gilt die Differenz der Mittelwerte ($\bar{x}_{gj}$) dann als signifikant, wenn sie der Formel

$$(\bar{x}_A - \bar{x}_B) \sqrt{\frac{2n_A n_B}{n_A + n_B}} > s_{oq}(p; f)$$

genügen.

n = Stichprobenumfänge, aus denen die Mittelwerte ($\bar{x}_{gj}$) stammen.

s_o = Quadratwurzel aus der Versuchsfehlervarianz s_o^2 .

q ist bei HARTER (1960) für den jeweiligen Rang p und dem Freiheitsgrad f tabelliert.

R_p ist die kritische Grenzwertdifferenz.

Ein Nachteil des DUNCAN-tests ist allerdings, daß keine Wahrscheinlichkeit für den Gesamtversuch bekannt ist,

d.h. bei vier zu prüfenden Mittelwerten existiert eine statistische Sicherheit für vier, eine für drei und eine für zwei Mittelwerte (E.WEBER, 1967). Für das hier zu lösende statistische Problem ist der Verlust an Schärfe jedoch so gering, daß dies - ohne das Ergebnis wesentlich zu beeinträchtigen - hingenommen werden kann, da andererseits wiederum die kritischen Bereiche mit wachsender Rangordnungszahl p größer werden.

Tab. 11: Tafel der Grenzwertdifferenzen R_p

Tumorgruppen	$\bar{x}_g$	p	$q(p;128)$	$R_p = s_o q$
Oligodendrogliom	5,16			
Astrozytom	2,86	2	3,70	4,66
Glioblastom	1,17	3	3,86	4,86
Neurinom	0,24	4	3,96	4,99

Aus der Varianzanalyse folgt: $FG = 128$; $s_o = 1,26$
 Sicherheitswahrscheinlichkeit: $\alpha = 1\%$

Die geprüften Differenzen überschreiten die jeweiligen Grenzwertdifferenzen R_p , d.h. die Tumoren unterscheiden sich hinsichtlich ihrer H/M-Quotienten signifikant. Das bedeutet weiter, daß das LDH-IE Muster der statistisch geprüften Tumorgruppen sich aus unterschiedlichen H- und M-Anteilen zusammensetzt.

2.0. DISKUSSION

2.1. Elektrophoretische LDH-IE Auftrennung und mögliche physikalisch-chemische Fehlerquellen.

Bei der Elektrophorese können Verbreiterungen der aufgetrennten Banden beobachtet werden, die größer sind als daß man sie mit der gewöhnlichen molekularen Diffusion erklären kann. Diese Bandenanomalie - wahrscheinlich aus einer erneuten Vermischung schon getrennter Proteinzonen entstehend - wird durch das Phänomen der Elektrodifffusion erklärt. Es stellte sich heraus, daß eine Diffusionskonstante D_c , vergleichbar mit jener der molekularen Diffusion, diese Bandenanomalie beschreiben kann; allein eine befriedigende mathematische Lösung dieser Diffusionskonstanten ist noch nicht erfolgt (BOYACK et al., 1959).

Bei der LDH-IE Auftrennung wird die Elektrodifffusion der schon getrennten Proteine durch die Wahl geeigneter Puffersysteme, Kühlvorrichtungen und verschiedener poröser Träger (Agargel, Membranfolien, Polyacrylamid) zu verhindern versucht.

Nun liegt es auf der Hand, daß bei der unterschiedlichen Porengröße und den verschiedenen Adsorptionskoeffizienten obiger Trägersubstanzen mehr oder minder starke Abweichungen bei den einzelnen Methoden der Elektrophorese hinsichtlich Wanderungsgeschwindigkeit und Bandenschärfe auftreten können. Dabei steht man vor dem Problem der richtigen Identifizierung der aufgetrennten LDH-IE Banden, vor allem dann, wenn nicht fünf Isoenzyme aufgetreten sind. So darf es nicht verwundern, wenn bezüglich der Abweichung im Isoenzymmuster des normalen

Hirns (vgl. WOHLRAB et al., 1972) und der daraus sich ergebenden Problematik für die Beurteilung des LDH-Isoenzymusters - besonders bei benignen Gliomen - widersprüchliche Meinungen auftauchen.

Aus diesen Erwägungen heraus kommt man mehr zu der Auffassung, daß die von BUCKELL et al. und SOETENS et al. zusätzlich beschriebenen Fraktionen bei bösartigen Gliomen des Menschen als methodisch bedingte Artefakte zu werten sind, da sowohl bei unseren histologisch adäquaten Neoplasien als auch bei der Serie von HAGLID et al., SHERWIN et al., TIMPERLEY und WOHLRAB et al. ähnliches nicht zu beobachten war.

2.2. Die biologische Varianz des Versuchsmaterials

MAYNEORD (1932) hat am JENSEN-Sarkom gezeigt, daß die Tumorstwachstumsrate, gemessen im Tumordurchmesser, keiner logarithmischen Wachstumskurve folgt, die man erwarten darf, wenn sich die Tumorzellen in Zweierpotenzen teilen, sondern daß sich das Wachstum linear zur Zeit verhält, woraus MENDELSON (1963) eine Differentialgleichung für die Wachstumsrate experimenteller wie spontaner Blastome des Menschen abgeleitet hat. KIRSCH et al. (1972) konnten sowohl in tierischen als auch menschlichen Neoplasmen an der Tumorpheripherie höhere metabolische Umsatzraten messen als im Zentrum. Diese Ergebnisse bedeuten, daß in Zonen, vermutlich vermehrter Zellteilung (Tumorpheripherie), ein anderes LDH-LE-Muster vorherrschen muß als im Tumorrinneren. Im allgemeinen ist die Tumorpheripherie ausreichend vaskularisiert, während zum Tumorzentrum hin eine Malvaskularisation eintritt, was gleichbedeutend mit einer unterschiedlichen O_2 -Versorgung der einzelnen Tumorzonen ist. Dabei spielt allerdings die O_2 -Diffusion im Tumorgewebe noch eine gewisse

Rolle, die von der von WARBURG (1926) in vitro errechneten Grenzschnittdicke abhängt. Genaue Angaben über die Grenzschnittdicke in vivo scheitern jedoch an methodischen Schwierigkeiten.

Da bei einem Teil der Tumoren unserer Serie (Gliome des Menschen) eine Charakterisierung der Proben - Tumorpheripherie bzw. Tumorzentrum - nicht vorgenommen werden konnte, ergibt sich für die LDH-IE Auftrennung die Konsequenz, daß sich im Tumorphomogenat LDH-Isoenzyme aus Zellen verschiedener Wachstumszonen und damit verschiedener H- und M-Anteile, entsprechend der Stoffwechselsituation, befinden müssen.

Unter konstanten Versuchsbedingungen jedoch ist es möglich, für die einzelnen Tumorproben reproduzierbare LDH-IE Auftrennungen zu erhalten. Um die Versuchsfehlervarianz gering zu halten, ist es von Bedeutung, daß die Auswahl des Materials für die LDH-Elektrophorese immer von derselben Person vorgenommen wird.

2.3. LDH-Isoenzyme und ihre regionale Verteilung im Gehirn

PFLEIDERER et al. (1961) untersuchten Groß- und Kleinhirn des Menschen und teilten mit, daß sich im Großhirn bereits beim vier Monate alten Foeten eine Stabilisierung der LDH-IE abzeichnet, während sich im Kleinhirn noch eine Verschiebung der Aktivitätsverteilung der LDH-IE dergestalt ergibt, daß sich das Maximum von der LDH_3 nach LDH_1 verlagert.

Untersuchungen über den O_2 -Verbrauch des Neurons und der Neuroglia zeigen auf, daß in anatomisch definierten Hirnregionen erheblich verschiedene O_2 -Umsatzraten bestehen müssen (HYDEN et al., 1960, HESS

1961). Folgerichtig kann in verschiedenen Hirnregionen ein unterschiedliches LDH-IE Muster erwartet werden.

Während VAN DER HELM (1962) keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich der regionalen LDH-IE Verteilung im menschlichen Gehirn feststellt, geben GERHARDT et al. das Isoenzymmuster von 28 Regionen des Normalhirns beim Menschen an und finden in 27 Gehirnstrukturen eine regionale Verteilung. Auch TIMPERLEY findet in verschiedenen Hirnregionen des Menschen ein jeweils abweichendes LDH-IE Muster.

SYNER und GOODMAN (1966) und GOODMAN et al. (1969) untersuchten die LDH-IE in Gehirnhomogenaten der aufsteigenden phylogenetischen Reihe der Primaten. Sie berichten, daß beim adulten Individuum mit fortschreitender Entwicklung des Gehirns bzw. dessen einzelnen Strukturen, ein shift von der anfänglichen Dominanz der M-Monomeren zu einem Überwiegen der H-Monomeren zu erkennen ist; ausgesprochen auffällig ist dieser Befund in einigen Gehirnregionen, wie dem Neocortex und dem Corpus callosum.

BONAVITA und GUARNERI (1963) finden in entsprechend untersuchten Rinderhirnen einen Aktivitätsgipfel der LDH_1 in der Pons, der Medulla oblongata, im Cerebellum, wohingegen die LDH_1 -Aktivität im Frontallappen und im Hippocampus abnimmt und sich eine Aktivitätsverteilung in Richtung auf die LDH_{1-3} ausbildet.

Eigene Untersuchungen von Gehirnregionen verschiedener Species können die Ergebnisse über eine regionale Isoenzymverteilung bestätigen. (Tab. 12). Dabei soll das Isoenzymmuster eines adulten Wollaffen dem eines neugeborenen Schweinsaffen (Tab. 12 a) gegenübergestellt werden. Jedoch ist anzumerken, daß sich im Hirn eines Neugeborenen noch nicht alle Strukturen klar ausgebildet haben. Daher hat man sich in Tab. 12 a - um die Fehlerquelle klein zu halten -

auf den Lobus frontalis und das Cerebellum beschränkt.

Tab. 12: Regionale LDH-IE Verteilung bei einem zweijährigen, männlichen Wollaffen (Tgb.Nr. 568/72)

Gehirnregion	LDH-IE Aktivitäten in rel. %					H-Ant. rel. %	H/M
	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅		
Cerebellum	3,0	31,0	54,0	11,0	1,0	55,9	1,26
Pons	3,0	34,0	56,0	7,0		58,1	1,39
Lam. quadr. ant.	6,0	30,0	60,0	3,0	1,0	59,1	1,44
Hippocampus	10,0	56,0	25,0	6,0	3,0	66,0	1,94
Lobus frontalis	3,0	18,0	70,0	9,0		53,7	1,16
Substantia grisea	7,0	41,0	47,0	5,0		62,5	1,67
Substantia alba	2,0	11,0	66,0	19,0	2,0	47,9	0,92

Tab. 12 a: LDH-IE im Gehirn eines neugeborenen Schweinsaffen (Tgb.Nr. 569/72)

Material	LDH-IE Aktivitäten in rel. %					H-Ant. in rel. %	H/M
	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅		
Lobus frontalis			8,0	81,0	11,0	24,2	0,32
Cerebellum		2,0	18,0	72,0	8,0	28,5	0,39

Da also ein in den verschiedenen Hirnregionen differentes LDH-IE Muster angetroffen wird, kann dies vermutlich nicht

ohne Einfluß auf die LDH-Isoenzyme tumorös veränderter Gehirngewebe bleiben. Die topographische Lokalisation eines Hirntumors muß auch in die Überlegungen der Bedeutung des LDH-IE Musters für die Hirntumordiagnostik miteinbezogen werden.

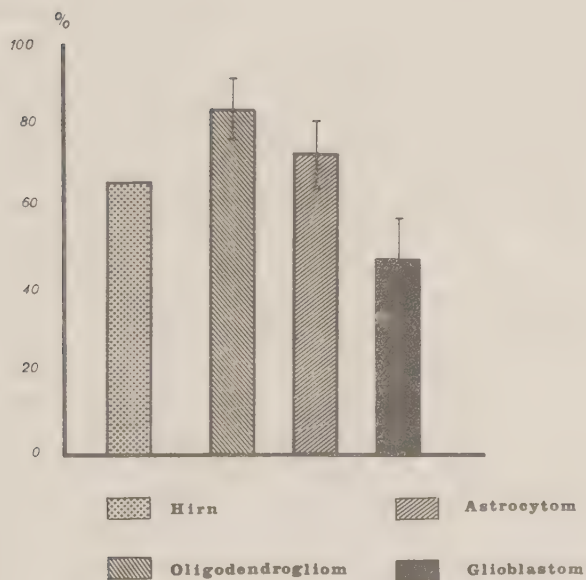
2.4. Vergleich und Aussagewert der LDH-IE von spontanen und experimentellen Tumoren des NS und seiner Hüllen

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, daß sowohl bei spontanen Tumoren des Menschen und des Hundes als auch bei experimentellen neurogenen Tumoren der Ratte ein relatives Absinken des H-Anteiles und des H/M-Quotienten mit steigenden Malignitätsgrad des Tumors zu beobachten ist (Abb. 8). Diese Aussage stimmt gut mit den von STAVROU (1970, 1972 a, 1972 b, 1973), HAGLID et al. (1970) und TIMPERLEY (1971) mitgeteilten Ergebnissen überein. Diese besagen, daß bei isomorphen Gliomen (Grad I) des Menschen die Banden LDH_1 und LDH_2 stark vertreten sind, während bei pleomorphen bzw. entdifferenzierten Blastomen (Grad II bzw. Glioblastom) entsprechend dem jeweiligen Anaplasiegrad eine Abnahme der anodischen Fraktionen erfolgt und die kathodischen Banden LDH_4 und LDH_5 erheblich an Aktivität gewinnen. Dabei fällt auf, daß die H/M-Quotienten menschlicher Gliome höher sind als die animalischer, wobei - neben den experimentellen Rattengliomen - die experimentellen Neurinome die absolut niedrigsten H/M-Quotienten aufzuweisen haben.

Bei den spontanen Gliomen des Hundes bekommt man im allgemeinen einen morphologisch unreiferen Tumor als bei Vergleichstypen des Menschen zu sehen. Andererseits sind beim Hund Herdsymptome selten erkennbar (FRAUCHIGER und FRANKHAUSER, 1957) und dramatische neurologische Ausfalls-

Abb.8

**Verteilung der H-Monomeren im Hirn
und in seinen Gliomen (Mensch)**



erscheinungen treten nach McGRATH (1965) erst bei intracranieller Drucksteigerung infolge des Tumorstwachstums auf. Damit kommen die Tiere erst relativ alt (8 bis 12 Jahre) zur Sektion. Dies läßt den Schluß zu, daß dem glialen Hundetumor auch relativ lange Zeit zur weiteren Entdifferenzierung zur Verfügung steht (DAHME et al., 1960). Das LDH-IE Muster mit der deutlichen Betonung der kathodischen Fraktionen kann diesen Eindruck nur bestätigen.

Die in der Regel maligne Erscheinungsform experimenteller Gliome bzw. Neurinome der Ratte wird dann verständlich, wenn man die massive Belastung mit neurotrophen Cancerogenen, der die Tiere kontinuierlich ausgesetzt werden, mit in Erwägung zieht. Der Zellreichtum und die ausgeprägte Zellpleomorphie der experimentellen neurogenen Rattentumoren weisen darauf hin, daß diese prolongierte Zellalteration in ein exzessives Wachstum mündet. Die Beobachtungen von MAURIAC, BONNARD und SERVANTIE (1923) (zit. nach WARBURG, 1926), daß zellreiche Tumoren mehr Zucker verbrauchen als zellarme kann mithin die äußerst niedrigen H/M-Quotienten erklären. Die zellreichen Rattengliome und Neurinome benötigen ein LDH-IE System, das vorwiegend aus dem im anaeroben Milieu arbeitenden M-subunits aufgebaut sein muß, damit der hohe Energiebedarf, ausgelöst durch die überstürzte Zellproliferation, durch die anaerobe Glykolyse gesichert ist.

Wie statistische Auswertungen zeigen, darf menschlichen Gliomen ein jeweils spezifisches LDH-IE Muster, abweichend von dem des Normalhirns, zugeteilt werden (STAVROU et al., 1973). Ferner haben auch Neurinome der Ratte eine statistisch gesicherte LDH-IE Verteilung.

Das Verhalten der LDH-Isoenzyme weist auf die Bedeutung des Modells der Induktion neurogener Tumoren mittels Nitrosamide zum Studium von Tumorstoffwechselvorgängen hin,

die von pharmako-therapeutischem bzw. diagnostischem Interesse sind. Es wäre wohl denkbar, daß die Hemmung der kathodischen LDH-Fraktionen, die in vitro möglich ist, das Glioblastomwachstum beeinflußt (STAVROU, 1971).

Hinsichtlich der Morphologie und der Verteilung der LDH-IE sind bei spontanen und experimentellen neurogenen Tumoren verschiedener Species durchaus vergleichbare Beziehungen aufzustellen. Wie weiter aus dem Studium der Katamnesen der Hirntumorpationen gefolgert werden darf, ist mit einem niedrigen H/M-Quotienten (<1) - gleichbedeutend einer zunehmenden Entdifferenzierung des Tumors - eine Rezidivwahrscheinlichkeit bzw. Möglichkeit eines letalen Ausgangs erhöht.

Die LDH-IE Zusammensetzung kann und soll aber nur neben den klassischen Methoden für die Beurteilung der Dignität eines neurogenen Tumors herangezogen werden, da - wie die Tab. 13 zeigt - in gewissen Wertebereichen eine Überlappung der H/M-Quotienten eintritt.

Tab. 13: Korrelation zwischen H/M-Quotienten und Tumortyp (Mensch)

H/M-Quotient	Tumortyp
$> 6,16$	Oligodendrogliom I
$3,94 - 3,60$	Oligodendrogliom II Astrozytom I
$3,60 - 1,74$	Astrozytom II Oligodendrogliom II
$> 1,22$	Glioblastom

Ein Versuch der Korrelation zwischen dem H/M-Quotienten, der relativen Aktivität der LDH₅ und dem diagnostizierten Tumor wurde von GERHARDT et al. aufgrund des stetigen Kathodenshifts mit zunehmender Malignität unternommen. Wir konnten uns dem nicht anschließen, da die LDH₅ gegen Temperaturänderungen sehr sensitiv (KREUTZER et al., 1965) und damit die Möglichkeit einer Fehlinterpretation sehr groß zu sein scheint.

2.5. LDH-IE Veränderungen und ihre mögliche genetische Determination

Die enzymatische Leistung einer Zelle unterliegt einer genetischen Determination, was bedeutet, daß das Problem der Variabilität eines Enzymmusters innerhalb einer Zelle auch von der genetischen Seite her betrachtet werden muß. Nach ZANG (1973) lassen sich bei experimentellen Tumoren meistens Chromosomenanomalien nachweisen. MARK (1969) findet auch bei zwei benignen intracraniellen Tumoren des Menschen ein abnormes Chromosomenbild und MARK et al. (1970) berichten über Befunde von Chromosomenanalysen bei 40 menschlichen Gliomen. Dabei hatten drei Geschwülste double-minutes in allen oder den meisten Zellen, während fünf weitere die gleichen Abweichungen in einzelnen Zellen boten. Double-minutes werden auch bei Mäusesarkomen beobachtet. Gegenwärtig darf angenommen werden, daß Zellen mit double-minutes bevorzugter in neurogenen Tumoren auftreten als in anderen Neoplasmen des Menschen (MILES, 1967). Es ist aber derzeit unmöglich zu entscheiden, ob diese Bevorzugung ein nicht vererbliches Charakteristikum des Nervengewebes ist, wenn es einer bösartigen Transformation unterliegt oder ob es mit der Einwirkung des onkogenen Agens in Verbindung zu bringen ist. Es können also bis jetzt nur Spekulationen über eine Verbindung zwischen

einer Veränderung des Genoms und dem veränderten Zellstoffwechsel angestellt werden.

2.6. Beziehungen zwischen den LDH-IE und dem O_2 -Verbrauch im blastomatösen Gewebe

Der Sauerstoffverbrauch des normalen menschlichen Gehirns liegt nach übereinstimmenden Messungen mit Hilfe des FICKschen Prinzips bei 1,5 mM O_2 /kg/min (SCHEINBERG et al., 1949; HEYMAN et al., 1951), wobei Kinder einen etwas höheren Wert zeigen (KENNEDY, 1956).

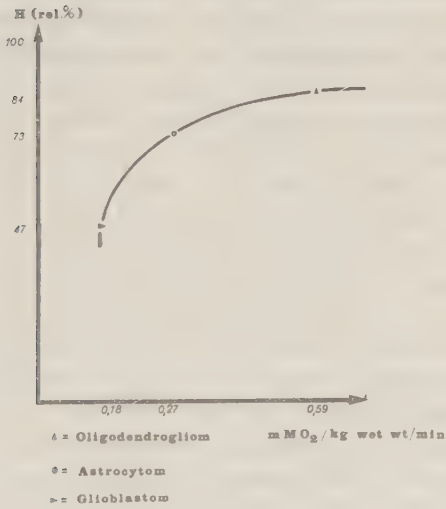
Der Sauerstoffverbrauch glialer Tumoren des Menschen weicht erheblich nach unten von dem Normwert des Gehirns ab (Lit. bei ALLEN, 1972). Entsprechend der Bestimmungsmethode haben - jeweils ausgedrückt in mM O_2 /kg/min - die Oligodendrogliome einen Wert von 1,04 - 0,11, die Astrozytome von 0,27 - 0,07 und die Glioblastome von 0,34 - 0,03. Ein Vergleich des O_2 -Verbrauches mit den H-Anteilen von Oligodendrogliomen, Astrozytomen und Glioblastomen des Menschen zeigt, daß eine gute Korrelation zwischen der Höhe der H-Anteile bzw. deren Überwiegen und dem O_2 -Verbrauch besteht (Abb. 9). Messungen über den Sauerstoffverbrauch von experimentellen Rattengliomen bzw. Neurinomen und von neurogenen Spontantumoren des Hundes liegen zwar noch nicht vor, aber es dürfen ähnliche, wenn nicht noch niedrigere Werte, entsprechend dem entdifferenzierteren Stadium der Tumoren, erwartet werden.

Zur Klärung der Problematik, inwieweit die O_2 Spannung als Regulativ für die Synthese von M- und H-Untereinheiten angesehen werden muß, sind einige Versuche unternommen worden (McBETH et al., 1962; GOODFRIEND et al., 1966). Diese konnten aber die Frage, in welchem Maß die blastomatös differenzierte Zelle die Fähigkeit, H-subunits zu synthetisieren, verloren hat und ob diese Potenz bei opti-

Abb. 9: Die Graphik zeigt eine Relation zwischen dem O_2 -Verbrauch und dem H-Monomergehalt der drei menschlichen glialen Tumoren. Der O_2 -Verbrauchswert für das Oligodendrogliom wurde der Arbeit von ALLEN (1957), die für Astrozytome und Glioblastome der von MAHALEY (1966) entnommen.

Abb. 9

Relation des O_2 -Verbrauchs zum H-Monomerenwert



malen O_2 -Versorgung wieder demaskiert werden kann, noch nicht beantworten. Eine Prüfung dieses Problems sowie das Vorherrschen einer eventuellen Malabsorption an Aminosäuren zur H-Synthese kann methodisch befriedigend in vitro nur in der Gewebekultur vorgenommen werden. Dort kann eine Tumorzelllinie wechselnder, aber sich im steady-state befindender O_2 -Versorgung ausgesetzt werden und ist zudem jederzeit für eine LDH-IE Bestimmung zugänglich.

Es darf als gesichert gelten, daß der H-Anteil bzw. H/M-Quotient für die untersuchten Gliome des Menschen repräsentativ ist. Rückschlüsse auf die Wachstumsrate eines neurogenen Tumors können daraus jedoch nicht getroffen werden. Der respiratorische Quotient (RQ) des Säugerhirns liegt bei einem Wert von 1,0, was bedeutet, daß das Gehirn seine Nettoenergie über die Verwertung von Glucose im oxydativen Metabolismus bezieht. Messungen des RQs von HELLER und ELLIOT (1955) und VICTOR und WOLF (1937) für Astrozytome und Glioblastome ergeben Werte von 0,88 - 0,77 bzw. 0,70. Eine bemerkenswerte Ausnahme macht dabei das Oligodendrogliom mit einem RQ von 1,06 (HELLER und ELLIOT, 1955). Diese niedrigen RQs sind nur dann erklärbar, wenn Astrozytome und Glioblastome außer Glucose auch andere Substrate umzusetzen vermögen. Aus dem RQ für Oligodendrogliome darf geschlossen werden, daß dieses seine Energie noch ausschließlich über eine Glucoseverwertung via EMBDEN-MEYERHOF-pathway mit Einschleusung in den KREBS-Zyklus bezieht. Das Überwiegen der anodischen LDH-Fraktionierung kann diese Annahme unterstreichen.

Die Diskussion über die Laktatproduktion außerhalb der Glucosemetabolisation ist voll im Gange (KIRSCH et al., 1972). Solange diese "extra-Laktatproduktion" und ihre Quellen nicht objektiviert werden können, bleibt offen, inwieweit auch die Wachstumsrate von Astrozytomen und Glioblastomen noch von anderen Substraten und Enzymsyst-

emen beeinflußt werden, eine Möglichkeit, für die auch enzymtopochemische Ergebnisse sprechen.

Enzymtopochemische Beobachtungen von PAXTON (1959), LEHRER (1962) und STAVROU (1970) an glialen Tumoren weisen auf eine höhere Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase hin als sie im Cortex beobachtet wird. Da dieses Enzym im Hexose-Mono-phosphat-pathway eine wichtige Rolle spielt, ist es nicht ausgeschlossen, daß neurogene Tumoren diesen Abbauweg zur Energiegewinnung beschreiten, wie es ALLEN (1972) in einer Graphik darstellt.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, daß das veränderte LDH-IE Muster neurogener Tumoren verschiedener Species als Ausdruck eines Anpassungsmechanismus der Tumorzellen gewertet werden darf.

3.0. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der Agargel-Elektrophorese wurde die Verteilung der Lactatdehydrogenase-Isoenzyme (LDH-IE) spontaner und experimenteller Tumoren des Nervensystems (NS) und seiner Hüllen quantitativ untersucht. Als Untersuchungsmaterial dienten 107 Neuroepitheliome und 37 Meningome des Menschen sowie acht spontane Neuroepitheliome und sechs spontane Meningome des Hundes. Die experimentellen, mittels N-methyl-N-nitrosoharnstoff bzw. Phenyl-dimethyl-triazin induzierten neurogenen Tumoren der Ratte setzten sich aus 14 Gliomen und 39 Neurinomen zusammen. Die dabei erzielten Ergebnisse lassen sich, wie folgt, zusammenfassen:

1. Spontane wie experimentelle NS-Tumoren sind sowohl morphologisch als auch vom LDH-IE Muster her vergleichbar, während sich bei spontanen Meningomen verschiedener Species zwar untereinander vergleichbare Beziehungen ergeben, aber eine Gleichstellung mit den neuroepithelialen Tumoren hinsichtlich des LDH-IE Musters nicht möglich ist.
2. Mit zunehmenden Malignitätsgrad neurogener Tumoren ergibt sich bei allen untersuchten Species eine Abnahme der H-Anteile bzw. des H/M-Quotienten. Dabei haben die spontanen, neurogenen Tumoren des Menschen noch die höchsten H-Anteile, wohingegen die H-subunits bei neurogenen Spontantumoren des Hundes schon deutlich absinken. Der niedrigste H-Monomerengehalt wurde ausnahmslos bei experimentellen Rattentumoren festgestellt.
3. Der O_2 -Verbrauch neurogener Tumoren, deren LDH-IE bzw. H-Anteil und das morphologische Bild korrelieren dergestalt, daß mit zunehmender Entdifferenzierung des Tumors eine Abnahme des O_2 -Verbrauches und eine Zunahme an M-Untereinheiten einhergeht. Umgekehrt haben gut differenzierte Tumoren

einen höheren O_2 -Verbrauch, der korrespondierend einen höheren H-Monomergehalt der Lactatdehydrogenase hervorruft.

4. Gliome des Menschen (Oligodendrogliome, Astrozytome und Glioblastome) lassen jeweils spezifische - abweichend von dem des normalen Hirnes - LDH-Isoenzymverteilungen erkennen. Jene und experimentelle Rattenneurinome weisen statistisch signifikante Unterschiede im H- bzw. M-Monomergehalt der Lactatdehydrogenase auf, was als Ausdruck der veränderten Stoffwechsellaage im tumorösen Gewebe angesehen werden darf.

3.1. Summary

In this comparative study the distribution of isoenzymes of lactic dehydrogenase (LDH) was quantitatively determined by agar-gel-electrophoresis in 115 spontaneous neuroectodermal and 43 mesodermal neoplasms of both man and dog. Further, 14 gliomas, induced by N-methyl-^{nitrosamine}urea and 39 neurinomas, induced by Phenyl-dimethyl-triazene in rats were analysed in the same way.

The results of this investigation are as follows:

1. The LDH-isoenzymatic pattern of neurogenic tumours in man, dog and rat are comparable with each other and only few morphological differences between human, canine and experimental murine tumours are to be seen. Concerning the LDH-isoenzymatic distribution, spontaneous meningiomas of man, dog and cat, however, are also comparable with each other but not to that of the neuroepithelial tumours.
2. The study clearly shows a relative decrease in the H-subunits with an increase of the degree of malignancy in neurogenic tumours. A prominent cathodic-shift takes place in them depending on their degree of anaplasia. The highest rate of H-subunits was measured in human gliomas, followed by canine neoplasms. Without exception, experimental murine tumours have had the lowest H-subunits.
3. There is a well defined correlation between the LDH-isoenzymatic pattern, the O_2 -uptake and the morphological picture. A progressive dedifferentiation of tumour-cells is accompanied by a decrease in the O_2 -consumption and a corresponding low H-subunit value for lactic dehydrogenase.
4. Human gliomas (oligodendrogliomas, astrocytomas, glioblastomas) and experimental rat neurinomas are characterized by statistically proved values of H- and M-monomers, due to the changed metabolic situation in the tumour-cells.

4.0. LITERATURVERZEICHNIS

- ALLEN, N.: Oxidative metabolism of brain Tumors.
Prog.exp. Tumor Res. 17, 192-209 (1972)
- ALLEN, N.: Cytochrome oxidase in human brain tumors.
J. Neurochem. 2, 37-44 (1957).
- BÄR, U, SCHMIDT, E. und SCHMIDT, F.W.: Enzymmuster und Isoenzyme menschlicher Tumoren. Klin. Wschr. 9, 77 (1963).
- BISHOP, J.M., EVERSE J., KAPLAN, N.O.: Identifikation of Lactate Dehydrogenase Isoenzymes by Rapid Kinetics. Proc. Nat. Acad. Sci., 69, 1761-1765 (1972).
- BONAVITA, V. and GUARNERI, R.: Lactate Dehydrogenase Isoenzymes in Nervous Tissue - III. Regional Distribution in Ox Brain. J. Neurochem., 10, 755-764 (1963).
- BOYACK, J. R. and GIDDINGS, J. C.: Zone and Boundary Diffusion in Electrophoresis. J.Biol.Chem., 235, 1970 - 1972 (1960).
- BUCKELL, M. and BARNES, G.K.: Supernumerary Fractions of Lactate Dehydrogenase in Two Malignant Gliomas. Brit.J.Cancer, 22, 237-243 (1968).
- CAHN, R. D., KAPLAN, N.O., LEVINE, L. and ZWILLING, E.: Nature and Development of Lactic Dehydrogenase. Science, 136-962 (1962).
- CORRIDORI, F., CREMONA, T. and TAGLIABNE, G.: Glutamic-Oxalacetic Transaminase and Lactic Dehydrogenase Activities in Brain Tumor Homogenates. J. Neuro.Chem., 6, 142-145 (1960).
- DAHME, E.: Meningome bei Fleischfressern. Berl. tierärztl. Wschr., 70,32-34 (1957).
- DAHME, E.und SCHIEFER, B.: Intracranielle Geschwülste bei Tieren. Zbl. Vet. Med., 4, 341-363 (1960).
- DAHME, E.:Vergleichende Betrachtung über Morphologie und Genese von Neoblastomen. Bericht des 7. Kongreßes der Deutschen Vet. med. Gesellschaft, Bad

Nauheim, 7./8. April 1967

- DAWSON, D.M., GOODFRIEND, T.L. and KAPLAN, N.O.: Lactic Dehydrogenase: Functions of the Two Types. *Science*, 143, 929-933 (1964).
- DICKENS, F. and SIEMER, F.: The Metabolismus of Normal and Tumor Tissue. IV. The Respiratory Quotient in Bicarbonates media. *Biochem.*, 25, 985-993 (1931).
- DIEMATH, H.E.: Zum Verlauf der Glioblastomkrankung. *Neurochir.*, 3, 45-59 (1960).
- FONDY, T. P. and KAPLAN, N.O.: Structural and Functional Properties of the H and M subunits of Lactic Dehydrogenases. *Ann. M.Y. Acad. of Sciences*, 119, 888-904 (1964,65).
- FRAUCHIGER, E. und FRANKHAUSER, R.: Vergleichende Neuro-pathologie des Menschen und der Tiere. Springer Verlag Berlin (1957).
- FUJIMOTO, Y., NAZARIAN, I. and WILKINSON, J.H.: Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Polymorphism in a Patient with Secondary Carcinoma of the Liver. *Enzym. biol.clin.*, 9, 124-136 (1968).
- GERHARDT, W. CLAUSEN, J., CHRISTENSEN, E. and RIISHED, J.: Changes of LDH-isoenzymes, Esterases, Acid phosphatases and Proteins in Malignant and Benign Human Brain Tumors. *Acta. neurol. Scand.*, 39, 85-111 (1963).
- GERHARDT, W., CLAUSEN, J., CHRISTENSEN, E. and RIISHED, J.: Lactate Isoenzymes in the Diagnosis of Human Benign and Malignant Brain Tumours. *J. nat. Cancer Int.*, 38, 343-356 (1967).
- GIBBS, E., L., LENNOX, W., V. NIMS, L. F. and GIBBS, F. A.: Arterial and Cerebral Venous Blood. Arterial-venous Differences in Man. *J. Biochem.*, 144, 325-332 (1942).
- GOODFRIEND, T. L., SOKOL, D. M. and KAPLAN, N., O.: Control of Synthesis of Lactic Acid Dehydrogenase. *J. mol. Biol.*, 15, 18-31 (1966).
- GOODMAN, M., SYNER, F., STIMSON, C. W., and RANKIN, J. J.: Phylogenetic Changes in the Proportions of Two Kinds of Lactate Dehydrogenase in Primate Brain

- Regions. Brain Res., 14, 447-459 (1969).
- HAGLID, K., CARLSSON, C. A., and THULIN, C. A.: Lactate Dehydrogenase Isoenzymes and Proteins in Human Gliomas. Neurochirurgia (Stuttg.), 13, 19-28 (1970).
- HARTER, H. L.: Critical Values for Duncan's new multiple range test. Biometrics, 16, 671-685 (1960).
- HAYES, K. C., and SCHIEFER, B.: Primary Tumors in the CNS of Carnivores. Path. vet., 6, 994-116 (1969).
- HELLER, I. H., and ELLIOT, K. A. C.: The Metabolism of Normal Brain and Human Gliomas in Relation to Cell Typ and Density. Canad. J. Biochem. Physiol., 33, 395-405 (1955).
- HENSCHEN, F. in: Handbuch der spez. path. Anat. und Hist. Bd. XIII/3; herausgg. von Lubarsch-Henke-Rössle, Springer Verlag Berlin (1955).
- INNES, J. R. M., and SAUNDERS, L. Z.: Comparative Neuro-pathology, Academic Press, New York (1962).
- JACOB, K.: Cerebrale Gliome bei Hunden. Zbl. Vet. Med., 6, 945-962 (1959).
- HELLER, W. und OLDENKOTT, P.: zur Pathobiochemie bei Gehirntumoren. Enzym. biol. clin., 10, 408 (1969 b).
- HENNING, J.: Quantitative Determination of Dehydrogenase Activity in Tissue Sections and Tissue Homogenates. Acta path. microbiol. scand. Sect. A, 80, 548-556 (1972).
- HESS, H. H.: The Rates of Respiration of Neurones and Neuroglia in Human Cerebrum, in KETY and ELKES, Regional neurochemistry, 200-212, Pergamon Press, New York, (1961).
- HYDEN H., PIGEON, A.: A cytophysiological Study of the Functional Relationship between Oligodendroglial Cells nad Nerve Cells of the Deiter's Nucleus. J. Neurochem., 6, 57-72 (1960).
- KIRSCH, W. M. and LEITNER J. W.: A Comparison of the Anaerobic Glycolysis of Human Brain and Glioblastoma. J. Neurosurg., 27, 45-51 (1967),

- KIRSCH, W. M., SCHULZ, D., VAN BUSKIRK, J., and NAKANE, P.: Anaerobic Energy Metabolism in Brain Tumors. Progr. exp. Tumor Res., 17, 163-171 (1972).
- KENNEDY, C.: The Cerebral Metabolic Rate in Children, in KOREY and NURENBERGER Progress in neurobiology. I. Neurochem., 230-238; Hoeber and Harper, New York, (1965).
- KERNOHAN, J. W., and SAYRE, G. P.: Tumors of the Central Nervous System. Atlas of Tumor Pathology, Section X, fasc. 35, A.F.I.P., Washington (1952).
- KETY, S. S.: Quantitative Determination of Cerebral Blood Flow on Man. Meth. med. Res. 1, 204-217 (1948).
- KNEDEL, M., EBERHARD, K. und KIRZEDER, H.: Zur Technik der Isoenzymelektrophorese der Lactatdehydrogenase in Agargel unter Anwendung einer geregelten Konvektionskühlung. G-I-T, 10, 631-636 (1966).
- KREUTZER, H. J. H. and KREUTZER H., H.: Lactate Dehydrogenase Isoenzymes Determination: Effect of Incubation Temperature. Clin. chim. Acta 11, 578 (1965).
- LANGVAD, E.: Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Patterns in the Tumorbearing Colon. Int. J. Cancer, 3, 17-29 (1968).
- LATNER, A. L. and SKILLEN, A. W.: Isoenzymes in Biology and Medicine. Academic Press London and New York, (1968).
- LECHNER, M.: Spontantumoren bei Säugetieren. Ein Beitrag zur vergleichenden Geschwulstforschung. Med.vet. Diss. München (1958).
- LEHRER, J. M.: The Quantitative Histochemistry of Human Glial Tumors. In FIELDS and SHARKEY, The Biology and Treatment of Intracranial Tumors, 140-154, Thomas, Springfield (1962).
- LODIN, Z., MÜLLER, J. and FALTIN, J.: Distribution of Some Dehydrogenases in the Cerebral Cortex. Nature, 217 316 (1968).
- LUGINBÜHL, H.: Zur vergleichenden Pathologie der Tumoren des Nervensystems. Schweiz. Arch. Tierheilk., 104, 305-322 (1962 a).
- LUGINBÜHL, H.: Geschwülste des ZNS bei Tieren, in: Symposium über vergleichende Neuropathologie. Acta neuropath. Suppl., 1, 9-18 (1962 b).

- LUGINBÜHL, H.: Comparative Aspects of Tumors of the Nervous System. Ann. N.Y. Acad. Sci., 108, 702-721 (1963).
- LUGINBÜHL, H.: A Comparative Study of Neoplasms of the Nervous System. Ann. N.Y. Acad. Sci., 108, 702-721 (1963).
- LUGINBUHL, H.: A Comparative Study of Neoplasms of the Central Nervous System in Animals, in: Classification of Brain Tumours. Acta neurochir. Suppl., 10, 30-42 (1964 a).
- LUGINBÜHL, H.: Oligodendrogliomas in animals, in: Classification of Brain Tumours. Acta neurochir. Suppl., 10, 173-184 (1964 b).
- LUGINBÜHL, H., FRANKHAUSER, R. and McGRATH, T.: Spontaneous Neoplasms of the Nervous Systems in Animals. Progr. neurol. surg., 2, 85-164 (1968).
- McBETH, R. A. L. and BEKESI, J. G.: Oxygen Consumption and Anaerobic Glycolysis of Human Malignant and Normal Tissue. Cancer Res., 2, 244-248 (1962).
- McGRATH, J. I.: Neurologic Examination of the Dog. Lea and Febiger, Philadelphia (1956).
- MAHALEY, M. S. jr.: The in vitro Respiration of Normal Brain and Brain Tumors. Cancer Res., 26, 195-197 (1966).
- MARK, J.: Two Benign Intracranial Human Tumors with an Abnormal Chromosomal Picture. Acta neuropath. (Berl.), 14, 174-184 (1969).
- MARK, J. and GRANBERG, J.: The Chromosomal Aberration of Double Minutes in Three Gliomas. Acta neuropath. (Berl.) 16, 194-204 (1970).
- MARKERT, C. L., and MOLLER, F.: Multiple Forms of Enzymes: Tissue, Ontogenetic and Species Specific Patterns. Proc. nat. Acad. Sci., 45, 753-763 (1959).
- MARKERT, C. L. and APPELIA, E.: Physicochemical Nature of Isoenzymes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 94, 678-690 (1961).
- MARKERT, C. L.: Lactatedehydrogenase Isoenzymes: Dissociation and Recombination of Subunits. Sci., 140, 1329-1330 (1963).
- MARKERT, C. L.: The Molecular Basis for Isoenzymes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 151, 14-40 (1968).

- MARKERT, C. L.: Isozymes and Cellual Differentiation, in: Advances in the Bioscience 6, Schering Symposium on Intrinsic and Extrinsic Factors in Early Mammalian Development, Venice, April 20 to 23, (1970).
- MAYNEORD, W. V.: On the Law of Growth of JENSENS's Rat Sarcoma. Amer. J. Cancer, 16, 841-846 (1932).
- MENDELSON, M. L.: Proliferation and Tumor Growth, in: LAMERTON and TRY Cell, 190-210, Davis Phil. (1963).
- MÜLLER, W. und SCHRÖDER, R.: Zur Diagnostik der Gliome. Neurochir. (Stuttg.) 11, 30-36 (1968).
- NEAME, K. D.: Uptake of L-Histidine, L-Proline, L-Ornithine, L-Lysine and L-Methionine by Brain Tissue in vitro: A Comparison with Uptake by Sarcoma RD 3 and Other Tissues. J. Neurochem., 9, 321-324 (1962).
- NISSEN, N. J. and BOHN, L.: Patterns of Lactic Acid Dehydrogenase Isoenzymes in Normal and Malignant Tissues. Europ. J. Cancer, 1, 217-219 (1965).
- PAXTON, H. D.: Quantitative Histochemistry of Brain Tumors and Analogous Tissue. Neurology, 9, 367-370 (1959).
- PFEIFFER, S. E., KORNBLITH, P. L., CARES, H. C., SEALS, I. and LEVINE, L.: S¹⁰⁰-Protein in Human acoustic Neurinomas. Brain Res., 41, 187-193 (1972).
- PFLEIDERER, G. WACHSMUTH, E. D.: Die Heterogenität der Lactatdehydrogenase in Entwicklungsgeschichte und Pathologie des Menschen. Klin Wschr., 39, 352-354 (1961).
- PFLEIDERER, G. und WACHSMUTH, E. D.: Alters-und funktionsabhängige Differenzierung der Lactatdehydrogenase menschlicher Organe. Biochem. Z., 334, 185 - 189 (1961).
- PFLEIDERER, G.: Lactatdehydrogenase, Handbuch der physiolog. u. path. -chem. Analyse. Band VI/A, 10. Aufl. (1964).
- PLAGEMANN, P. G. W., GREGORY, K. F. and WROBLEWSKI, F.: The Electrophoretically Distinct Forms of Mammalian Lactic Dehydrogenase. I. Distribution of Lactic Dehydrogenase in Rabbit and Human Tissues. J. Biol. Chem., 235, 2282-2287 (1960).
- POTEL, K.: Über das Vorkommen von Meningomen bei Mensch und Tier. Mh.f.vet.Med., 14, Sonderheft 1, 43-46 (1959).

- PROCHAZKA, R., JIRASEK, V., BARTA, V., KOHOUT, J., KORBOVA, L., SCHLUPEK A. and SLEZAK, Z.: Differences in Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Patterns in Various Parts of Human Stomach and in Gastric, Peptic Ulcer and Gastric Carcinoma. *Gastroenterology*, 54, 65 ff (1968).
- RANSON, S. W. and CLARK, S.C.: *The Anatomy of the Nervous System*. 10 th ed., Saunders, Phil. and London (1959).
- RINGERTZ, N.: "Grading" of Gliomas. *Acta path. microbiol. Scand.*, 27, 51-64 (1950).
- RUSSEL, D. S. and RUBINSTEIN, L. J.: *Pathology of Tumors of the Nervous System*. 3 rd ed. Arnold, London (1971).
- SANO, K., CHIGASAKI, H. and TAKAKURA, K.: Diagnostic Value of LDH Isoenzymes Studies in Intracranial Tumors. *Proceed. 3 rd Int. Congr. Neurolog. Surg. Copenhagen, Aug.* (1965).
- SCHEFFE, H.: *Analysis of Variance*, 4 th ed., Wiley, N.Y. (1964).
- SCHEINBERG, P. and STEAD, E. S. jr.: The Cerebral Blood Flow in Male Subjects as Measured by the Nitrous Oxide Technique. *J. clin. Invest.*, 28, 1163-1172 (1949).
- SCHIEFER, B. und DAHME, E.: Primäre Geschwülste des ZNS bei Tieren. *Acta neuropath. (Berl.)*, 2, 202-212 (1962).
- SCHIEFER, B., STAVROU, D., SHADDUCK, J., KAISER, E. und DAHME, E.: Zur Frage der Tumoren des ZNS beim Hund. *Tierärztl. Umschau*, 25, 297-299 (1970).
- SHERWIN, A., LeBLANC, F. F. and McCANN, W. P.: Altered LDH Isoenzymes in Brain Tumors. *Arch. Neurol.*, 18, 311-315 (1968).
- SNEDECOR, G. W.: *Statistical Methods*. Iowa, Iowa State College Press (1948).
- SOETENS, A., KARCHER, D., VAN SANDE, M. LÖWENTHAL, A.: Sur la présence d' isoenzymes supplémentaires de lactico-déhydrogenase dans deux cas de tumeur cérébrale. *Acta neurol. belg.* 64, 295 (1964).
- STAVROU, D.: Morphologische und enzymhistochemische Untersuchungen an experimentellen PNS-Tumoren der Ratte. *Arch. Geschwulstforsch.*, 34, 297-308 (1969 b).

- STAVROU, D., SCHIEFER, B. und SWOBODA, R.: Zur Frage des "Gradings" von Gliomen bei Tieren. Beitr. path. Anat., 140, 182-193 (1970).
- STAVROU, D.: Beitrag zur Morphologie und Enzymhistochemie experimenteller Tumoren des Nervensystems der Ratte. I. Morphologische Befunde. Acta neuropath. (Berl.), 15, 220-230 (1970 a).
- STAVROU, D.: Beitrag zur Morphologie und Enzymhistochemie experimenteller Tumoren des ZNS der Ratte. II. Enzymhistochemische Befunde. Acta neuropath. (Berl.), 15, 231-239 (1970 b).
- STAVROU, D.: Zur vergleichenden Pathologie der Tumoren des Nervensystems. Zbl. Vet. Med. A, 18, 585-645 (1971).
- STAVROU, D., HAGLID, K. D., WEIDENBACH, W.: The Brain Specific Proteins S₁₀₀ and 14.3.2. in Experimental Brain Tumors of the Rat. Z. ges. exp. Med., 156, 237-242 (1971).
- STAVROU, D., KNEDEL, M., WEIDENBACH, W.: Vergleichende Aspekte bezüglich Aktivität und Isoenzymmuster der Lactatdehydrogenase bei spontanen sowie experimentellen Hirngliomen. Intern. Symposium on "Biochemistry and Histochemistry of Cerebral Tumors", Poznań (Poland), May 1971 (1972 a).
- STAVROU, D., KNEDEL, M.: Zur Verteilung der Lactatdehydrogenase bei experimentellen Tumoren des Zentralnervensystems. 16. Tag Deutscher Neuropath., Neuroanat., Heidelberg, 1971; Zbl. ges. Neurol. Psychiat., 205, 189 (1972 b).
- STAVROU, D., ZÄNKER, K., WEIDENBACH, W. und KNEDEL, K.: Bedeutung der Histotopochemie und der Lactatdehydrogenase Isoenzyme für die Beurteilung der Dignität von Hirntumoren. Z. Krebsforschung (1973) (im Druck).
- STAVROU, D. und HAGLID, K. D.: Water Soluble Proteins from Rat Brain and from Experimental Tumours of Rat Nervous System. Z. Krebsforsch. (1973) (im Druck).
- STÜNZI, H. und PERLSTEIN, Z.: Über Hirngeschwülste bei Hund und Katze. Schweiz. Arch. Tierheilk., 100, 139 ff (1958).
- SYNER, F. N. and GOODMAN, M.: Differences in the Lactic Dehydrogenase of Primate Brains. Nature (Lond.), 209, 426-428 (1966).

- TAMASCHKE, C.: Beiträge zur vergleichenden Onkologie der Haussäugetiere. *Wiss. Zschr. Humboldt-Univ.*, 1, 37-77 (1951/52).
- TIMPERLEY, W. R.: Lactate Dehydrogenase in Tumours of the Nervous System. *Acta neuropath. (Berl.)*, 19, 20-24 (1971).
- VAN DER HELM, H. J.: A Simplified Method of Demonstrating Lactic Dehydrogenase Isoenzymes in Serum. *Clin. chim. Acta*, 7, 124 (1962).
- VAN DER HELM, H. J.: Isoenzymes in Different Parts of the Brain. *J. Neurochem.*, 9, 325-327 (1962).
- VICTOR, J. and WOLF, A.: Metabolism of Brain Tumors. *Proc. Ass. Res. nerv. ment. Dis.*, 16, 44-58 (1937).
- VERWER, M. A. I. und VAN DEN AKKER, S.: Intracranial Tumors in Dogs. XVI. *Int. tierärztl. Kongreß, Madrid*, 2, 289-291 (1959).
- VESSEL, E. S., PHILIP, J. and BEARN, A. G.: Comparative Studies of the Isoenzymes of Lactic Dehydrogenase in Rabbit and Man. *J. Exp. Med.*, 116, 797 (1962).
- VOGT, U.: Neurologische Diagnose und Verlauf des Glioblastoms. *Dtsch. med. Wschr.*, 97, 717-722 (1972).
- WACHSMUTH, E., D. PFLEIDERER, G. und WIELAND, Th.: Aminosäurezusammensetzung von Isoenzymen der Lactatdehydrogenase aus menschlichen und tierischen Organen. *Biochem. Z.*, 340, 80-94 (1964).
- WARBURG, O. und MINAMI, S.: Versuche am überlebenden Carcinomgewebe. *Klin. Wschr.*, 1, 776-777 (1923).
- WARBURG, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren. Springer Verlag, Berlin (1926).
- WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik, 6. Aufl., G. Fischer Verlag, Stuttgart (1967).
- WECHSLER, W.: Old and NEW Concepts of Oncogenesis in the Nervous System of Man and Animals. *Progr. exp. Tumor Res.*, 17, 219-278 (1972).
- WIELAND, Th. und PFLEIDERER, G.: Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenase verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese. *Biochem. Z.*, 329, 112 (1957).

- WIELAND, Th., GEORGOPOULOS, D., KAPPE, H. und WACHSMUTH, E. D.: Analytischer Beweis der Hybridnatur von Isoenzymen der Lactatdehydrogenase. *Biochem. Z.*, 340, 483-486 (1964).
- WILKINSON, J. H.: Isoenzymes, Chapman and Hall LTD., London (1970).
- WOHLRAB, F., ARENDT, A. und GAERTNER, H. J.: Zur Verteilung der Lactatdehydrogenase in menschlichen Hirngeschwülsten. *Arch. Geschwulstforsch.*, 39/3, 202-219 (1972).
- WOLFF, H.: Die Isoenzymverteilung der Lactatdehydrogenase in der normalen und der dem Tumor angrenzenden Schleimhaut sowie im Krebsgewebe des Magens und Dickdarms. *Arch. Geschwulstforsch.*, 34, 188-196 (1969).
- YASIN, R. and BERGEL, F.: Lactate Dehydrogenase Isoenzymes Patterns in Human Normal and Malignant Gastric Mucosa. *Europ. J. Cancer*, 1, 203-209 (1965).
- ZANG, K. D.: Mündliche Mitteilung, (1973), Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München.
- ZINKHAM, W. H., BLANCO, A. and CLOWRY, L. J.: An Unusual Isoenzyme of Lactate Dehydrogenase in Mature Testes: Localization Ontogeny und Kinetic Properties. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121, 571-588 (1964).
- ZINKHAM, W. H., BLANCO, A. and KUPCHGK L.: Lactatdehydrogenase in Pigeon Testes: Genetic Control by Three Loci. *Science*, 144, 1353-1354 (1964).
- ZÜLCH, K. J.: Die Hirngeschwülste, John. Ambr. Barth Verl. Leipzig (1956).
- ZÜLCH, K. J.: Biologie und Pathologie der Hirngeschwülste in: OLIVECRONA-TÖNNIS, Hdb. der Neurochirurgie Bd. III, Springer Verlag Berlin (1956).
- ZÜLCH, K. J.: Atlas of Tumours of the Nervous System. Springer Verlag, Berlin (1971).

Herrn Professor Dr. E. Dahme bin ich für die Möglichkeit, in seinem Hause diese Arbeit anzufertigen, zu großem Dank verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt ferner Herrn Privatdozenten Dr. D. Stavrou für die Stellung des Themas, die wertvollen Anregungen und die stets gewährte Hilfe.

Herrn Dr. W. Weidenbach, dem Chefarzt der Neurochirurgischen Abteilung des Klinikums rechts der Isar der TU München sei an dieser Stelle für das Operationsmaterial nochmals gedankt.

Nicht zuletzt danke ich Herrn Dr. K. Osterkorn, Institut für Tierzucht, Vererbungs- und Konstitutionsforschung der Universität München, für die statistischen Ratschläge und für die Benützung des Tischrechners, mit dessen Hilfe rechenintensive Probleme gelöst wurden.

LEBENS LAUF

Am 3. April 1946 wurde ich als Sohn des Polizeibeamten Kurt Emil Zänker und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Bauer, in Passau geboren.

Von 1952 an besuchte ich die Volksschule und dann das Mathematisch-Naturwissenschaftliche Gymnasium in Passau; 1964 wechselte ich in das Wirtschaftsgymnasium Regensburg über, an dem ich 1967 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1967/68 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Freien Universität Berlin, das ich ab Wintersemester 1969/70 an der Universität München fortsetzte. Am 28. Februar 1973 habe ich das tiermedizinische Staatsexamen bestanden.

